



Aalto-yliopisto
Kemian tekniikan
korkeakoulu

Kemian tekniikan korkeakoulu

Kemian tekniikan koulutusohjelma

Panu Rautiainen

BINÄÄRIKOMPONENTTISET ELEKTRODIPINNOITTEET

ELEKTROKEMILUMINESENSSIMITTAUKSIIN

**Diplomityö, joka on jätetty opinnäytteenä tarkastettavaksi diplomi-
insinöörin tutkintoa varten Espoossa 13.9.2017**

Valvoja

Professori Sakari Kulmala

Ohjaaja

Diplomi-insinööri Kalle Salminen

Tekijä Panu Rautiainen

Työn nimi Binäärikomponenttiset elektrodipinnoitteet elektrokemiluminesenssimittauksiin

Koulutusohjelma Kemian Tekniikka

Pääaine Analyytinen kemia

Työn valvoja Sakari Kulmala

Työn ohjaaja(t)/Työn tarkastaja(t) Kalle Salminen

Päivämäärä 13.9.2017

Sivumäärä 46

Kieli Suomi

Tässä diplomityössä tutkittiin kaksikomponenttisista pinnoitteista valmistettujen elektrodien toimivuutta kuumiin elektroneihin perustavassa elektrokemiluminesenssissa. Pinnoitteiden valmistuksessa käytetty polymeeri oli nylon 6,6. Johdepartikkelina pinnoitteissa käytettiin hiiltä, jota kokeiltiin neljää erilaista laatua. Tutkituista pinnoitteista valmistetuista komposiittielektrodeista, jotka kykenivät injektoimaan kuumia elektroneja vesiliuoksiin, mitattiin: malliluminofooreilla emissiointensiteetti, elektrodien sähkönjohtavuus, mahdollinen anodinen toiminta, pH:n vaikutus sekä lopuksi mitattiin kalibraatiosuora malliluminoforille. Vertailukohteena elektrodien toimivuudelle käytettiin alumiinioksidipäällysteisiä alumiinielektrodeja. Valmistusmenetelmän hitaudesta ja heikosta toistettavuudesta huolimatta valmistetut komposiittielektrodit antavat hyvän vasteen elektrokemiluminesenssimittauksissa ja ovat toimivuudeltaan luotettavia valmistuksen onnistuessa.

Avainsanat HECL, hiilimusta, grafiitti, elektrokemiluminesenssi, nylon 6,6.

Author Panu Rautiainen

Title of thesis Binary component coatings for electrochemiluminescence measurements

Degree Programme Chemical Technology

Major Analytical chemistry

Thesis supervisor Sakari Kulmala

Thesis advisor(s) / Thesis examiner(s) Kalle Salminen

Date 13.09.2017

Number of pages 46

Language Finnish

Focus of this master's thesis was to study the applicability of electrodes made from binary component coatings on a metal substrate in hot electron-induced electrochemiluminescence applications. The polymer used in the creation of the coatings was nylon 6, 6. Conducting particles embedded in the polymer matrix were various types of carbon, i.e. four different types of carbon particles were used to fabricate novel electrodes capable of injecting hot electrons into aqueous solutions. From the composite electrodes created using the developed coatings electrochemiluminescence emission intensity of model luminophores were measured as well as conductivity of the composite electrodes, possible anodic activity and the effect of pH on electrochemiluminescence. Lastly, a calibration curve for model luminophore was measured. To compare the functionality of the created carbon electrodes aluminium oxide-covered aluminium electrodes were used as reference. Despite slowness and rather poor repeatability of the manufacturing process of the present composite electrodes, they showed good response during the electrochemiluminescence measurements and functioned reliably when manufacturing had been successful.

Keywords HECL, carbon black, graphite, electrochemiluminescence, nylon 6,6

Alkulause

Tämä diplomityö otti aikansa valmistua. Tuntui, että välillä elämä vei poluille, jotka johtivat poispäin omista tavoitteistani ja välillä tuntui, että tavoitteet sumenivat näköpiiristä kokonaan. Tämän diplomityön valmistuminen ei täten olisi ollut mahdollista ilman joukkoa henkilöitä, jotka jaksoivat tukea minua silloinkin, kun oma usko ei tuntunut riittävän. Suurimmat kiitokseni sekä valvojalleni professori Sakari Kulmalle sekä ohjaajalleni diplomi-insinööri Kalle Salmiselle loppumattomasta avusta ja kärsivällisyydestä työn tekemisen aikana. Ilman heitä tämä työn tekeminen ei olisi ollut mahdollista. Kiitokset myös Aalto-yliopistolle ja sen analyyttisen kemian laitokselle työtilan ja materiaalien järjestämisestä. Maininta myös ystäväilleni, jotka missään vaiheessa eivät lopettaneet muistuttelua valmistumisen venymisestä. Työ omistettu edesmenneelle äidilleni Pia Rautiaiselle.



7.9.2017

Sisällysluettelo

Johdanto.....	4
Kirjallisuusosuus	5
1 Luminesenssi	5
2 HECL.....	6
3 Hydratoituneet elektronit	8
4 Eristepintaiset elektrodit.....	10
5 Luminoforit ja apuaineet.....	13
Kokeellinen osuus	18
11 Koejärjestelyt	18
12 Elektrodien valmistaminen	22
15 Hiilen määrän vaikutus havaittuun HECL-intensiteettiin.....	25
16 Vastusmittaukset	26
17 Anodiset mittaukset ja voltanmetria	28
18 Blankko mittaukset	29
19 Standardisarjat	31
20 Apuaineen lisäyksen vaikutus	32

21 Emissiointensiteetti virityspulssin funktiona	33
22 Tasavirtakokeet	34
23 pH:n vaikutus.....	36
24 Tutkimustulosten tarkastelu ja yhteenveto	38
Lähteet	39
Liitteet	45

Johdanto

Elektrokemiluminesenssi on kiinnostava tutkimusala, koska sitä voidaan käyttää laajan analyttikirjon toteamiseen korkealla selektiivisyydellä sekä herkkyydellä (1). Lisäksi mahdolliset analyysisovellukset ovat pitkälle kehitettynä mahdollista valmistaa yksinkertaisiksi ja helposti mukana kuljetettaviksi.

Tässä diplomityössä on tarkoitus keskittyä katodiseen elektrokemiluminesenssiin, joka ei ole samassa laajuudessa tutkittua kuin anodinen elektrokemiluminesenssi. Kokeellisessa osuudessa valmistetaan sarja kaksikomponenttisilla pinnoitteilla päällystettyjä elektrodeja ja verrataan niiden toimivuutta alumiinioksidilla päällystettyihin alumiiniektrodeihin, joiden toimivuus on kirjallisuudessa tunnettua (2). Käytettävä sidosaine/eristemateriaali pinnoitteissa on nailon 6,6, johon lisätään johdepartikkeliksi neljää erilaista hiilityyppiä. Valmistetut pinnoitteet annostellaan suoraan elektrodisubstraattien pinnalle, jotka ovat messinkiä.

Valmistettujen elektrodien toimivuutta mitataan katodisilla elektrokemiluminesenssikokeilla käyttäen sopivaa luminofori-reagenssia. Toimivassa elektrodissa elektronit tunnelloituvat läpi valmistetun eristekalvon saavutettuaan riittävän suuren energiatason, mikä johtaa luminoforin virittymiseen yksielektronisten hapetuspelkistysreaktioiden jälkeen ja viritystilan purkautuessa lopulta luminesenssiin (2). Ilmiö on nimeltään HECL eli Hot Electron-Induced Chemiluminescence tai kuumiin elektroneihin perustuva kemiluminesenssi (2).

Kirjallisuusuus

1 Luminesenssi

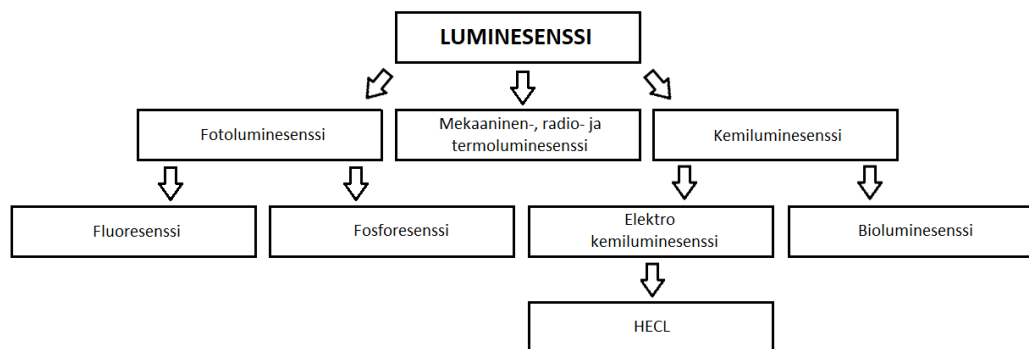
Luminesenssi on valon emittoitumista materiasta, joka palautuu viritystilasta perustilaansa (2). Viritystila voidaan saavuttaa monilla tavoin ja tätä käytetään luminesenssin kategoriseen jaotteluun. Valon aiheuttamaa virittymistä kutsutaan fotoluminesenssiksi, joka voidaan edelleen jakaa fosforesenssiksi, jossa elektronin spin muuttuu virittymisen ja emission aikana, ja fluoresenssiksi, jossa spin ei muutu (3). Mekaaninen-, radio-, ja termoluminesenssissa virittymisen aiheuttavat mekaaninen työ, sähkömagneettinen säteily ja lämpöenergia. Kemiallisilla reaktioilla aikaansaattua luminesenssia kutsutaan kemiluminesenssiksi.

Kemiluminesenssin reaktiot tapahtuvat usein virittyneen välituotteen kautta, joka hajotessaan lopputuotteeksi emittoi valoa. Tavallinen esimerkki kemiluminesenssista on luminoli-testi. Luminoli on luminofori, joka reagoi esimerkiksi veressä olevan raudan kanssa emittoiden valoa (2). Jos kemiluminesenssin synnyttävä reaktio on elektrokemiallinen, voidaan syntyvää luminesenssia kutsua elektrokemiluminesenssiksi. Toinen kemiluminesenssin yleinen alakategoria on biokemiallisten reaktioiden aiheuttama bioluminesenssi (3).

Elektrokemiluminesenssin etu verrattuna muihin kemiluminesenssin muotoihin on sen kyky virittää sama luminoforimolekyyli useaan kertaan, kun muut kemiluminesenssi menetelmät usein tuhoavat luminoforimolekyylin (4). Tässä diplomityössä keskitytään elektrokemiluminesenssin alakategoriaan HECL, joka

mainittiin johdannossa. Kuvassa 1 on esitetty luminenssin jaottelu ja HECL:n sijainti hierarkiassa.

Luminesenssia hyödyntävien analyysimenetelmien etuina ovat suuri herkkyys ja alhaiset toteamisrajat. Useimmat yhdisteet eivät kuitenkaan pysty suoraan emittoimaan valoa virittämällä. Tämän vuoksi on kehitetty useita leima-aineita, jotka voidaan kiinnittää haluttuun analyyyttiin (3), mikä mahdollistaa laajan analyyttikirjon tutkimisen luminesenssipohjaisilla menetelmillä.



Kuva 1: Luminesenssin jaottelu.

2 HECL

Analyyttisen tutkimuksen käytännön sovellusten kannalta on usein tärkeää, että tarvittavat mittaukset voidaan suorittaa vesifaasissa. Tämä rajoittaa tavanomaisten aktiivisten metallielektrodien käyttöaluetta, sillä käyttökelpoisen

”potentiaali-ikkunan” kasvaessa liian suureksi alkavat vesifaasissa tapahtuvat vedyn ja hapen muodostumisreaktiot estää ja häiritä tehtävää mittausta (4)(5).

HECL-mittaus alkaa tunneloitumisrajapinnan elektrodien katodisella pulssipolarisaatiolla tai joissain tapauksissa virittämisellä tasavirralla. HECL perustuu kuumiin elektroneihin, joita luodaan tyypillisesti johde/eriste/elektrolyytti (C/I/E) tai johde/eriste/johdin (C/I/C) – tyyppin elektrodeilla (1)(2)(4). Edellä mainittujen elektrodityyppien erona on, että toisessa eristekerros on suorassa kontaktissa elektrolyytin kanssa. Kirjallisuudessa näkee myös käytettävän termiä M/I/E (metal/insulator/electrolyte) eli metalli/eriste/elektrolyytti, jos johtava elementti elektrodissa on metallia (5).

HECL-elektrodien eristekerroksen laatu ja paksuus ovat valmistuksessa tärkeässä roolissa, sillä eristekerros mahdollistaa kuumien elektronien tuottamisen (1)(2). Kuumat elektronit voidaan määritellä elektroneiksi, joiden energia on ympäristön elektronien energiaa suurempi tai elektroneiksi, joiden energiataso on suurempi kuin ympäröivän vesifaasin fermienergia. Saavutettuaan riittävän korkean energiatason kuumat elektronit tunneloituvat eristekerroksen läpi elektrolyyttiin. Korkean energiatasonsa vuoksi nämä kuumat elektronit voivat saada vesifaasissa aikaan reaktioita, jotka olisivat mahdottomia saavuttaa käyttämällä tavallisia aktiivisia metallielektrodeja (2) (6).

Suurin etu kuumien elektronien käytössä on niiden kyky virittää vesiliuoksissa olevia luminoforeja, joita ei tavallisesti vesiliuoksissa pystytä virittämään. Lisäksi niillä voidaan mitata useilla eri aallonpituuksilla emittoivia analyyttejä samanaikaisesti (7). Elektrokemiluminesenssilla voidaan virittää iso joukko erilaisia merkkimolekyylejä, joita voidaan puolestaan käyttää esimerkiksi glukoosin ja muiden entsyymisubstraattien havaitsemiseen (7) (8) (9). Muita sovelluskohteita ovat esimerkiksi DNA-tutkimukset (10) ja mikrofluidijärjestelmät (6).

Tulevaisuuden tavoitteena on valmistaa edullisia, kannettavia ja kertakäyttöluonteisia HECL-sensoreita esimerkiksi terveydenhoidon käyttöön.

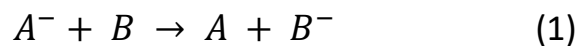
Yksi mahdollinen tekniikka tämän saavuttamiseksi on tulostustekniikoiden käyttö valmistuksessa. Tulostettujen sensoreiden etuna on niiden valmistamisen edullisuus (9). Tässä diplomityössä valmistettujen pinnoitteiden soveltuvuus tulostinmusteiksi on yksi mahdollisista jatkotutkimuskohteista. Muita tekniikoita kannettavien sovellusten parantamiseen on myös tutkittu, kuten esimerkiksi diodien käyttöä emissiointensiteetin parantamiseksi, mikä mahdollistaisi tavallisten digikameroiden käytön detektoreina (11).

3 Hydratoituneet elektronit

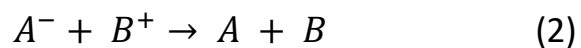
Kuumien elektronien tärkein ominaisuus on kyky muodostaa hydratoituneita elektroneja. Hydratoituneiden elektronien on ajateltu olevan veteen liuenneita ylimääräisiä elektroneja, joiden muodostama sähkökenttä muodostaa elektronin ympärille potentiaalikaivon, joka vangitsee ja stabiloi elektronia (12). Hydratoitunut elektroni on atomaarisen vedyn deprotonoitunut muoto (12). Hydratoituneet elektronit kykenevät äärimmäisen nopeisiin pelkistysreaktioihin ja ne mahdollistavat reaktioiden tapahtumisen kauempana elektrodipinnasta kuin olisi mahdollista pelkillä kuumilla elektroneilla (7).

Hydratoituneiden elektronien ominaisuudet johtuvat niiden kemiallisesta käyttäytymisestä. HECL:ssä muodostuvilla hydratoituneilla elektroneilla havaitaan enemmän Rahm-Weller tyyppin käyttäytymistä kuin, että ne noudattaisivat Marcuksen elektronin siirtoteoriaa (6) (14). Marcuksen siirtoteorian mukaan nopeusvakion pitäisi kasvaa, kun muutos Gibbsin vapaaenergiassa (ΔG) laskee silloin, kun ΔG on suhteellisen korkea (6). Vastaavasti nopeusvakion tulisi

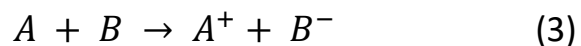
pienentyä ΔG pienentyessä, kun ΔG on suhteellisen matala. Markuksen siirtoteoria pätee tyypillisesti varauksen siirtoreaktioille



ja elektronien rekombinaatioreaktioille



Rehm ja Weller kuitenkin havaitsivat, että varauksen eroamisreaktiot



eivät Markuksen teoriaa noudattaneet (6). Näissä reaktioissa nopeusvakio ensin nousee nopeasti ja pysyy tämän jälkeen suhteellisen vakiona. HECL:n kannalta Rehm ja Weller tyypin käyttäytyminen tarkoittaa esimerkiksi sitä, että hydratoituneet elektronit pystyvät suorittamaan äärimmäisen nopeita pelkistysvaiheita, vaikka muutos Gibbsin vapaaenergiassa olisi hyvin negatiivinen (6).

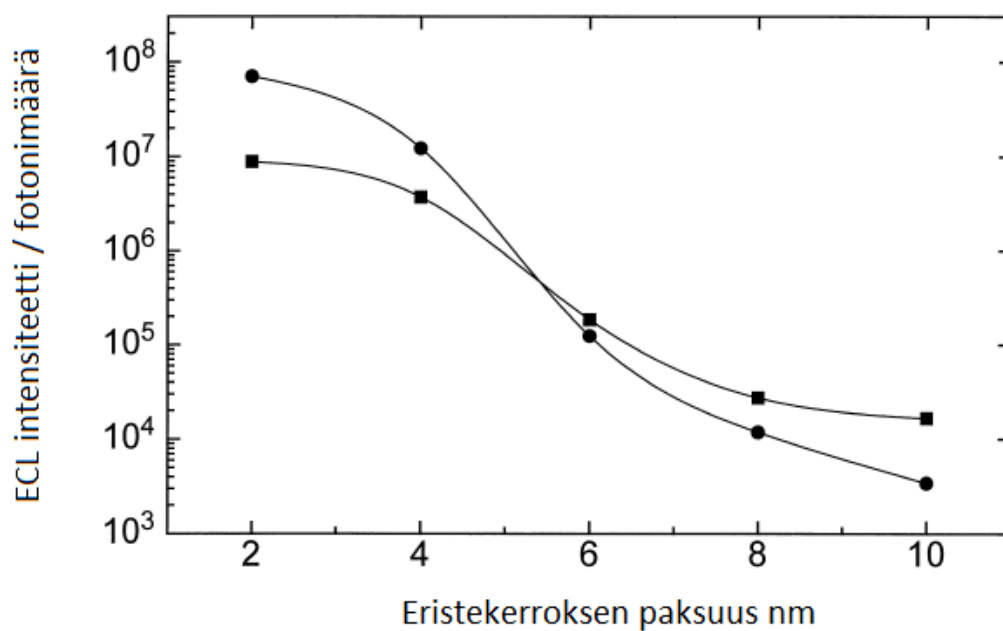
Kuumia elektroneja hydratoituneiden elektronien luomiseen voidaan tehdä muillakin järjestelmillä kuin elektrodin eristekerroksen läpi tunneloitumalla. Solvatoituneita elektroneja on esimerkiksi luotu elektrokemiallisesti

nanorakenteisesta hiilestä valmistetuista elektrodeista, mikä saavutettiin alhaisemmissa katodisissa potentiaaleissa kuin tavallisilla elektrodeilla on mahdollista (15) (16). Lisäksi teroitettua platinalankaa on käytetty elektrodina injektoidaan kuumia elektroneja suoraan vesiliuokseen (17). Kuumien elektronien lisäksi hydratoituneita elektroneja voidaan muodostaa veden radiolyysin avulla (13). Muita tapoja ovat esimerkiksi metallisen natriumin reaktio veden kanssa sekä fotoemission kautta (13).

Muodostuvat hydratoituneet elektronit ovat hyvin reaktiivisia ja täten hyvin lyhytikäisiä (13). Maksimaalinen elinaika neutraalissa vesiliuoksessa on noin 300 μ s. Ne reagoivat vesiliuoksissa hyvin hitaasti veden mutta nopeasti toistensa kanssa muodostaen eräänlaisen elektroniparin, joka nopeasti pelkistää vettä dielektronisesti vedyksi. Hydratoituneiden elektronien on todettu voivan vaurioittaa ihmisen DNA:ta (18).

4 Eristepintaiset elektrodit

Käytettäessä M/I-tyyppisiä elektrodeja on eristekerroksen paksuus kriittisessä roolissa HECL-mittausten toimivuuden kannalta. Optimaalinen paksuus on noin 2-4 nm (7) (19). Eristekerroksen täytyy olla tarpeeksi ohut, jotta elektronien suora tunneloituminen on mahdollista. Suora eli ballistinen tunneloituminen johtaa siihen, ettei suurta energian menetystä tapahdu (20). Liian paksu eristekerros, johtaa elektronien epäsuoraan tunneloitumiseen ns. Fowler-Nordheim – tunneloitumisen mekanismia noudattaen (5). Eristekerroksen paksuuden vaikutus alumiinioksidi päällysteisille alumiinielektrodeille on esitetty kuvassa 2 (19).



Kuva 2: Eristekerroksen paksuuden vaikutus alumiinioksidi/alumiini –elektrodeille persulfaatti-ionien kanssa ja ilman. Ilman persulfaatti-ioneja (■) ja $1 \cdot 10^{-3}$ M $K_2S_2O_8$ kanssa (●). Luminoforina käytetty Tb(III)-1 –kelaattia. (9)

Fowler-Nordheim –tunneloitumisessa elektronit kulkeutuvat eristekerroksen johtavuusvyön kautta (20). Näiden elektronien energia on matalampi kuin suoraan tunneloituneilla ja ne eivät ole kykeneväisiä muodostamaan hydratoituneita elektroneja tai välituoteradikaaleja (6). Kulmala ym. havaitsivat, että useimmat luminoforit tuottavat voimakasta kemiluminesenssia ainoastaan sähkökentän edesauttaman suoran tunneloitumisen aikana (21). Lisäksi eristekerroksen tehtävänä on estää emittoituneiden elektronien paluuta takaisin johdemateriaaliin (5). Yksi eristepintaisten elektrodien ongelmista on elektrodipinnan oma kiinteän tilan elektroluminesenssi voimakkaassa sähkökentässä. Oksidipintaissa elektrodeissa tämän on arveltu johtuvan oksidikerroksessa tapahtuvista elektronien siirtymistä elektronien loukkuuntumiskeskusten välillä (19). Mutta myös epäpuhtaudet voivat toimia säteilyä aiheuttavina rekombinaatiokeskuksina (19).

Katodisia elektrokemiluminesenssitutkimuksia on tehty useilla eri materiaaleilla valmistetuilla elektrodeilla. Tässä diplomityössä käytetään johdepartikkeleina grafiittia sekä hiilimustaa, mutta esimerkiksi myös hiilinanoputkia on tutkittu vastaavanlaisissa sovellutuksissa (8) (15). Muita tutkittuja elektrodimateriaaleja ovat esimerkiksi: oksidipäällysteinen pii, hiilimusta-polyeetteri-imidi (22) ja polystyreeni-grafiitti (23). Myös useita muita valmistustekniikoita voidaan käyttää elektrodien valmistukseen kuten esimerkiksi: atomikerroskasvatus (atomic layer deposition, ALD, käytetty magnesiumoksidi päällystykseen) (24), silkipaino (screen printing, hiielektrodit) (1), terminen hapetus (thermal oxidation, piielektrodit) ja kaasupinnoitus (vapour deposition, VD, puolijohde-elektrodit) (6).

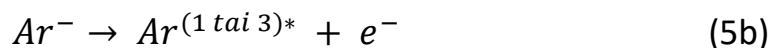
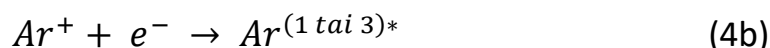
Alumiinioksidilla päällystetyt alumiinielektrodit ovat yksi eniten tutkituista elektrodityypeistä (2) (6) (14) (25) ja niitä käytetään tässä diplomityössä valmistettujen elektrodien vertailukohteena. Alumiinioksidi-kerroksella päällystetyt alumiinielektronit toimivat hyvin HECL:ssä, mutta niiden isoimpana ongelmana on korkean happamuuden tai emäksisyyden olosuhteet, joissa oksidikerros hajoaa (1) (26). Lisäksi herkkä oksidikerros voi helposti hajota epätoivotuissa vedyn tai hapen muodostumisreaktioissa (25). Alumiinioksidielektrodeilla on havaittu myös joissain tapauksissa heikko signaali/kohina –suhde (1).

Tällä hetkellä yksi kiinnostavimmista tutkimusaloista on erilaisten tulostustekniikoiden käyttö elektroniikan komponenttien valmistuksessa (27). Hiili/polymeeri -pohjaiset pinnoitteet teoriassa mahdollistavat tulostustekniikoiden käytön, mikä helpottaisi ja halventaisi elektrodien sarjatuotantoa (8). Hiili elektrodimateriaalina on taas joustava, sillä siitä valmistetut elektrodit ovat kestäviä ja osoittavat luotettavuutta elektrokemiallisissa reaktioissa (8). Lisäksi hiilen monet eri olomuodot vaikuttavat sen johtavuusominaisuuksiin (28).

5 Luminoforit ja apuaineet

Luminoforeiksi kutsutaan sellaisia kemiallisia yhdisteitä, jotka pystyvät tuottamaan luminesenssia. Luminoforeja on useita erilaisia, kuten esimerkiksi: fluoreysiini (29), eosiini ja luminoli (6). Tässä diplomityössä keskitytään metallikompleksi-luminoforeihin. Nämä molekyylit koostuvat keskusmetalliatomista ja sen ympärille muodostuneista ligandeista.

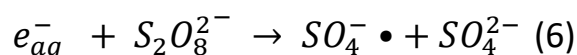
Luminoforeille voidaan teoriassa ehdottaa kahta yleisintä virittymismekanismireittiä elektrokemiluminesenssissa: hapetus-pelkistys ja pelkistys-hapetus. Molemmat reaktioreitit johtavat alkuperäisessä hapetustilassaan olevaan luminoformolekyylisiin, joka on virittynyt singletti- tai triplettitilaansa. Esimerkiksi aromaattisen yhdisteen kanssa seuraavat reaktiot olisivat mahdollisia (4). Yhtälöissä 4a ja 4b on kuvattu tavanomainen hapetus-pelkistys –reitti ja yhtälöissä 5a ja 5b pelkistys-hapetus –reitti. Joissain tapauksissa luminenssin syntyminen voi perustua myös luminoforin hajoamiseen (30).



Vesiliuosten tapauksessa reaktiomekanismi ei kuitenkaan ole muodostuvien välituoteradikaalien takia näin yksinkertainen (4) (5). Tästä johtuen käytetty luminofori ei yleensä pysty virittymään suoraan kuumien elektronien kanssa (2).

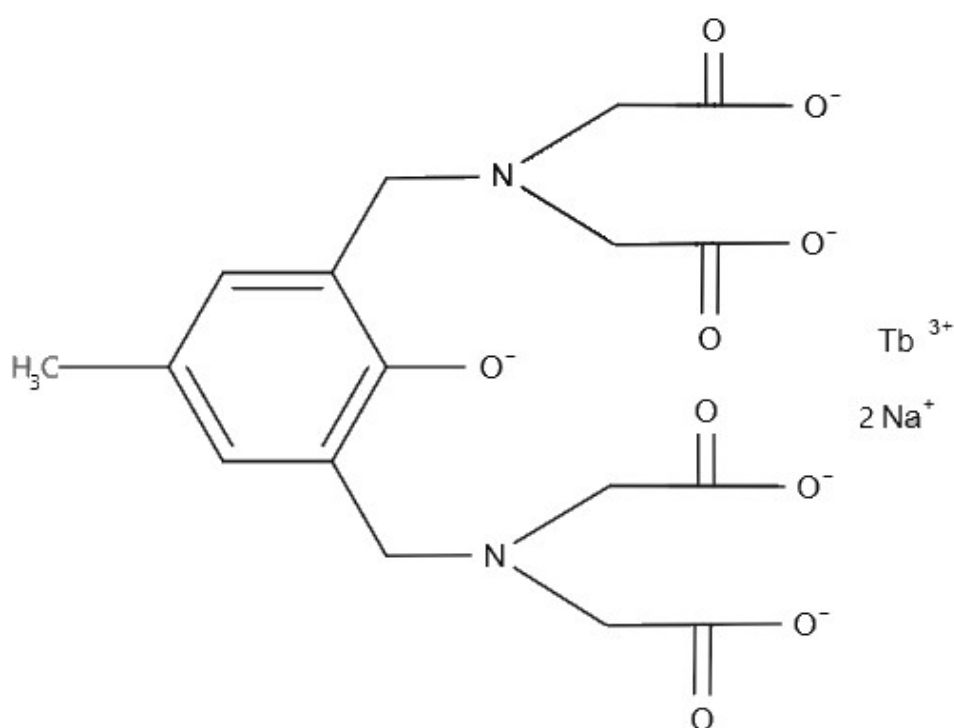
Tämä voidaan kiertää käyttämällä vesiliuoksessa apuaineita, joista kirjallisuudessa näkee myös käytettävän termiä koreaktantit.

Muodostuvan emissiointensiteetin suuruuteen voidaan vaikuttaa lisäämällä elektrolyyttiliuokseen elektronin kaappaajina toimivia apuaineita tai hydroksyyliiradikaalien kanssa reagoivia aineita (esim. NaN_3) (4) (20). Apuaineiden tehtävänä on reagoida kuumien elektronien tai hydroksyyliiradikaalien kanssa ja muodostaa voimakkaasti hapettavia tai pelkistäviä välituotteita, jotka edelleen reagoivat toivotulla tavalla itse luminoforin kanssa. Tässä diplomityössä käytetään kaikissa mittaliuoksissa apuaineena kaliumpersulfaattia. Persulfaatti-ioneiden läsnä ollessa hydratoituneet elektronit muodostavat hydroksyyliiradikaalien sijaan sulfaattiradikaaleja (21), jotka edelleen virittävät käytetyn luminoforin reaktiosylissä (2). Sulfaattiradikaalit ovat hyvin voimakkaita hapettimia ja ne pystyvät haettamaan hyvin monia luminoforeja (31). Sulfaattiradikaalien muodostuminen on esitetty yhtälössä 6. Muita käytettyjä vastaavia apuaineita on esimerkiksi: tripropyyliamiini sekä vetyperoksidi (32). Hydratoituneet elektronit reagoivat vetyperoksidin kanssa muodostaen hydroksyyliiradikaaleja, jotka ovat voimakkaita hapettimia (17). Hydroksyyliiradikaaleja voi syntyä myös vesiliuoksissa tilanteissa, joissa apuaineita ei ole käytetty. Hydratoituneet elektronit reagoivat liuenneen hapen kanssa muodostaen happiradikaalin, joka nopeasti reagoi vetyionien kanssa muodostaen vetyperoksidia. Tämä vetyperoksidi reagoi edelleen hydratoituneen elektronin kanssa muodostaen hydroksyyliiradikaaleja (6).



Tb(III)-kelaatti, jonka rakenne on esitetty kuvassa 3, on toinen tässä diplomityössä käytetyistä luminoforeista. Virittyneillä kelaateilla on suhteellisen pitkä

luminesenssielinaika, mikä mahdollistaa emission tutkimisen myös ajan funktiona (time-resolved electrochemiluminescence TR-ECL) (7) (26). Lisäksi kelaatin toteamisrajat pikomolaarista luokkaa (7). Tb(III)-kelaatti voidaan virittää voimakkaiden hapettimien ja pelkistimien samanaikaisesti läsnäollessa (14). Tämän vuoksi hydratoituneiden elektronien tai apuaineradikaalien muodostuminen on kemiluminesenssireaktion kannalta oleellista (14).

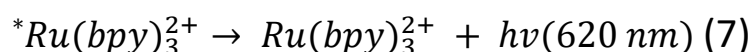


Kuva 3: Tb(III)-kelaatin perusrakenne.

Tb(III)-kelaatin virittymiselle on kaksi mahdollista reaktioreittiä hapetus/pelkistys tai pelkistys/hapetus (14). Normaalisti ainoastaan hapetus/pelkistys –reitillä on riittävä energia muodostaa virittyneen Tb(III)L-kelaatin mutta voimakkaiden hapettimien, esimerkiksi sulfaattiradikaalien, läsnä ollessa myös pelkistys/hapetus –reitti mahdollistuu (14). Kumpikin reaktioreitti johtaa ligandin virittymiseen.

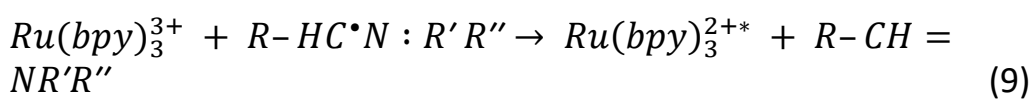
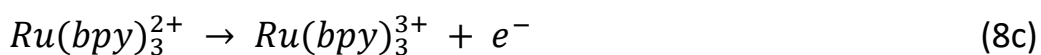
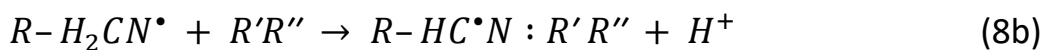
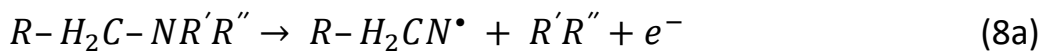
Varsinainen luminesenssi tapahtuu, kun energia kelaatin virittyneestä ligandista siirtyy intra molekylaarisesti keskusionille aiheuttaen sen viritystilan. Tämä vaatii sen, että virittyneen ligandin energiatason on oltava korkeampi kuin keskusatomin resonanssitalalla ja ettei virittynyt ligandi reagoi kemiallisesti keskusatomin kanssa (33). Tämän viritystilan purkautuminen johtaa elektroniseen siirtymään $^5D_4 \rightarrow ^7F_J$, ($J=6,5,4,3$) mikä aiheuttaa valon emittoitumisen (25) (32) (34). Emittoituvan valon emission maksimit ovat aallonpituuksilla: 489, 546, 585 ja 624 nm riippuen siitä, mille tilalle elektroni siirtyy (35).

Ruthenium(II) tris-(2,2'-bipyridiini) -kelaatti on hyvin tunnettu leimamolekyyli, jota on käytetty useissa bioaffineettisovelluksissa (36). Ruteniumbipyridiinin reaktioreittiä on tutkittu paljon eri apuaineiden kanssa (5) (37) (38). Kuten Tb(III)-kelaateilla $Ru(bpy)_3^{2+}$ -kelaatin HECL-virittymiselle on kaksi reittiä, jotka todennäköisesti toimivat ainakin osittain rinnakkain (37) (38). Voimakkaan ja hapettimen ja pelkistimen läsnäolo mahdollistavat reaktion (5). Viritystilan purkautuessa emittoituu valoa, jonka emission maksimi on aallonpituudella 620 nm. Viritystilan purkautuminen on esitetty yhtälössä 7.

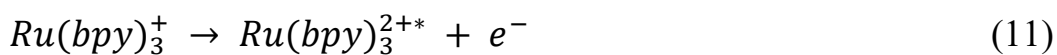
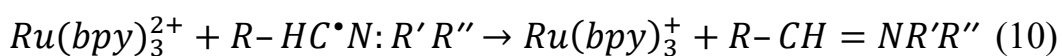


$Ru(bpy)_3^{2+}$ -kelaattia on käytetty luminoforina myös anodisessa elektrokemiluminesenssissa. Tavallinen anodinen koejärjestely koostuu potentiostaattisesti kontrolloidusta kolmen elektrodin järjestelmästä, jossa työ- ja vastaelektrodit ovat kultaa tai platinaa ja referenssielektrodi on hopeakloridipäällysteinen hopeaelektrodi (17). Toisin kuin tässä diplomityössä käytetyt elektrodit, anodisen elektrokemiluminesenssin elektrodit ovat useimmiten uudelleenkäytettäviä. Apuaineina käytetään usein amiineja. $Ru(bpy)_3^{2+}$ -anodinen virittyminen amiiniapuaineen läsnä ollessa hapetus-pelkistysreittiä on esitetty seuraavissa yhtälöissä (4). Ensiksi amiini hapettuu ja

deprotonoituu ja $Ru(bpy)_3^{2+}$ hapettuu (yhtälöt 7a-c). Syntynyt radikaali virittää $Ru(bpy)_3^{2+}$ -molekyylin (yhtälö 9), joka purkautuessaan emittoi valoa (yhtälö 7).



Myös pelkistys-hapetusreitti on mahdollinen anodisen potentiaalin ollessa riittävän korkea (4).



Kokeellinen osuus

11 Koejärjestelyt

Tässä diplomityössä käytetyt johdepartikkelit olivat: grafiitti sekä hiilimusta. Kumpaakin oli kahden eri valmistajan versioina eli yhteensä neljä erilaista johdepartikkelia. Näihin viitataan tästä lähtien nimillä hiilimusta #1 ja hiilimusta #2 sekä grafiitti #1 ja grafiitti #2. Käytettyjen johdepartikkelien tarkemmat tiedot on esitetty taulukossa 1.

	hiilimusta #1	hiilimusta #2	grafiitti #1	grafiitti #2
Tuotenimi	Vulcan XC72R	C65	SLP 30	-
Valmistaja	Cabot	Timcal	Timrex	forward looking solutions, UK
Partikkelikoko	50 nm	20 nm	32 μm	4-10 μm
Epäpuhtaudet	~40 ppm	~20 ppm	~60 ppm	-

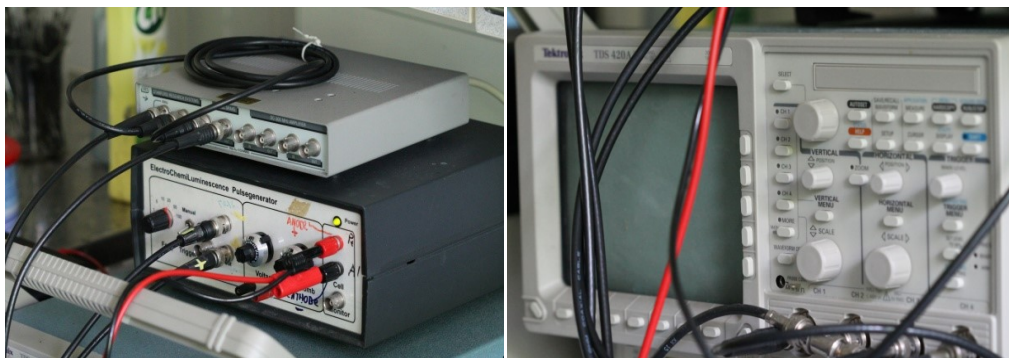
Taulukko 1: Käytettyjen hiililähteiden valmistajat ja tuotenimet.

Sidosaineena käytettiin Aldrichin 6,6 nylonia ($\text{C}_{12}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4$). Liuottimena käytettiin väkevää 98/100% muurahaishappoa (Fisher Scientific, HCOOH). Pinnoitteiden sekoittamiseen käytettiin ultraäänisondia.

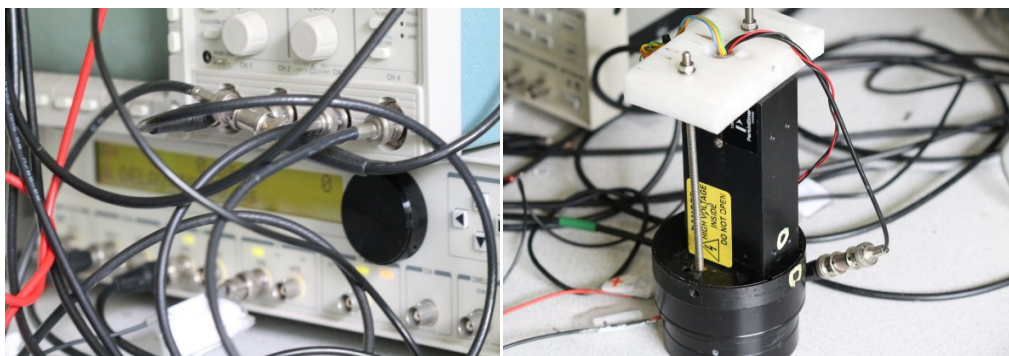
Elektrodisubstraatit valmistettiin ohuesta messinkilevystä irrottamalla siitä noin 1 cm halkaisijaltaan olevia kiekkoja. Kiekkoihin kiinnitettiin liimapinnalla teflon-sapluunat helpottamaan pinnoitteen asettumista messinkilevyn pinnalle. Valmistettujen elektrodien toimivuutta verrattiin eri tekniikoilla jo toimivana tunnettuihin (20) (21) alumiinioksidi päällysteisiin alumiiniektrodeihin, jotka oli valmistettu PVD:llä (physical vapor deposition).

Käytetty mittauslaitteisto koostui mittauskennosta, pulssigeneraattorista, Stanford Research Systems SR-445 signaalivahvistimesta, Perkin Elmer MH1993 1364-H-064 valomonistinputkesta, SR-400 fotonilaskurista, Tektronix TDS420A oskilloskoopista sekä kahdesta tulosten käsittelyyn käytettävästä PC:stä, joista toiseen oli asennettu Nucleous Inc MCS-11 multiscaler liitännäiskortti. Laitteiston rakenne on esitetty kuvassa 4 ja tarkemmat komponentit kuvissa 5-9. Mittakenno koostui kahdesta toisiinsa kiinni ruuvattavista osasta, joiden väliin mitattava elektrodi asetetaan siten, että elektrodin eristekerrokseton puoli on kontaktissa mittakennon virtalähteeseen yhdistettyyn osaan muodostaen kokonaisuutena järjestelmän työelektrodin. Mittakennon toinen osa koostuu vastaelektrodina toimivasta platinalangasta sekä teflon-eristeestä, joka kiinnitettynä muodostaa näytekammion. Näytemäärä kaikissa mittauksissa oli 150 µl.

Edellä kuvatun mittalaitteiston HECL-mittauksissa käytetyt mittausparametrit olivat: jännite -41,8 V, sähkömäärä 31,5 µC, Viritystaajuus 50 Hz ja viiveaika (dwell) 4 ms. Mitattu pulssimäärä oli 2000 pulssia ja mittausikkunan pituus 4 ms. Keskimääräinen pulssipituus oli noin 200 µs. Mittausviive oli 150 µs. Tb(III)-kelaatin emissiospektrin yksi maksimi on aallonpituudella 545 nm (35), joten valomonistinputkilaitteistoon asennettiin 545 nm suodatin vähentämään mahdollisen kiinteän tilan elektroluminesenssin vaikutusta mittaustulokseen.



Kuva 4: (Vasemmalla) Signaalivahvistin ja pulssigeneraattori (Oikealla) Oskilloskooppi



Kuva 6: (Vasemmalla) Fotonilaskuri (Oikealla) Valomonistinputki ja mittakenno



Kuva 7: Ylhäältä kuvattu mittakenno, jossa näkyvillä vastaelektrodina toimiva platinalanka

Kaikki mittaliuokset valmistettiin tislattuun veteen. Ensiksi valmistettiin puskuriliuos. Liutettiin kiinteätä dinatriumtetraboraattidekahydraattia ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$

* 10 H₂O) ja natriumsulfaattia (Na₂SO₄) siten, että valmiin puskurin konsentraatiot olivat 0,05 M (B₄O₇²⁻) ja 0,1 M (SO₄²⁻). Tähän puskuriliuokseen liuotettiin apuainetta kaliumpersulfaatti (K₂S₂O₈²⁻) konsentraatioon 0,001 M.

Apuaineen tarkoitus on muodostaa voimakkaasti hapettavia radikaaleja ja estää kuumien elektronien reaktioita veden kanssa. Liian suuri kaliumpersulfaattikonsentraatio kuitenkin inhiboi kemiluminesenssireaktiota (5). Tähän apuaineelliseen puskuriliuokseen valmistettiin 10⁻⁵ M terbium (Tb(III)) ja 10⁻⁵ M ruteniumbipyridiini (Ru(bpy)₃²⁺) -kelaattiliuokset, jotka toimivat mittauksissa luminofoireina.

Valmistetuille elektrodeille tehtävät vastusmittaukset suoritettiin Jandel model RM3000 mallin nelipistevastusmittarilla polyesterikalvolle valmistetusta pinnoitekerroksesta.

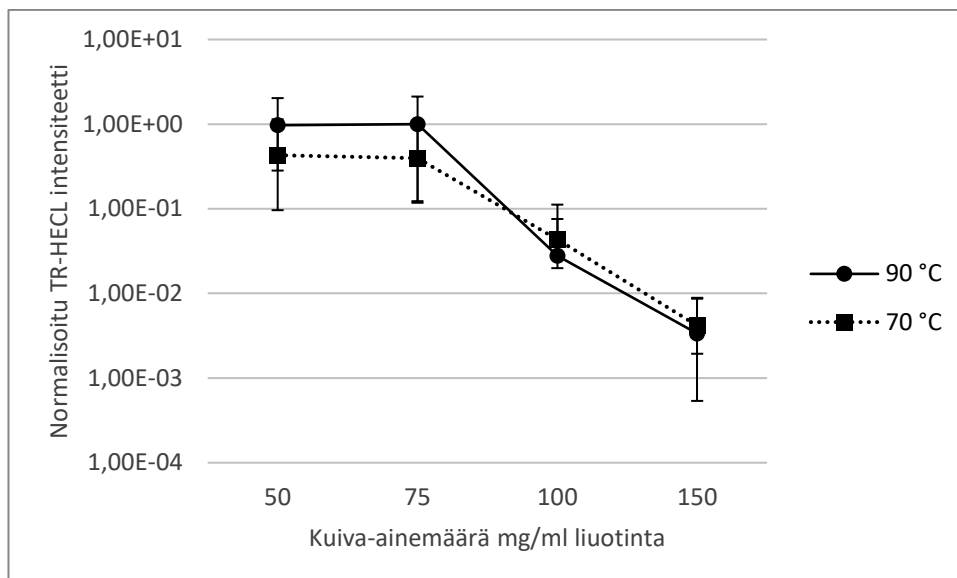
Anodisissa mittauksissa luminoforina käytettiin ruteniumbipyridiini, jonka emission maksimi on aallonpituudella 620 nm (5). Tämän vuoksi valomonistinputkilaitteistoon asennettiin 620 nm suodin vähentämään mahdollisen kiinteän tilan elektroluminesenssin vaikutusta. Virran kulkusuunta vaihdettiin mutta muuten käytetty laitteisto oli sama kuin HECL-mittauksissa. Mittausparametrit olivat myös samat kuin HECL-mittauksissa. Anodisissa mittauksissa mittaliuoksessa oli tripropyyliamiinia apuaineena (1 mM) ja nitraattia (0,1 M) jonka tarkoituksena oli estää valon muodostuminen katodisesti Pt-langalta mahdollisesti injektoituvien elektronien toimesta.

Valmistettujen hiielektrodien toimintaa tasavirralla tutkittiin vaihtamalla käytettyyn mittalaitteistoon DC-virtalähde. Käytetty jännite oli 5 V ja mittausaika noin 1 minuutti. Jokaisen hiililähteen parhaan HECL emissiointensiteetin antavasta hiilipitoisuudesta mitattiin kaksi elektrodia: toinen Tb 10⁻⁴ M -mittaliuoksen kanssa ja toinen blankon.

12 Elektrodien valmistaminen

Ennen varsinaisen mittasarjojen valmistamista määriteltiin joukko elektrodien valmistamiseen liittyviä parametreja. Ensimmäisenä oli hiili/nylon-pinnoitteen kuiva-ainekokonaiskonsentraatio sekä elektrodien kuivaustapa. Havaittiin, että uunissa eri lämpötiloilla kuivatut elektrodit eivät toimineet tai toimivat hyvin huonosti. Sen sijaan lämpölevyllä kuivatut elektrodit toimivat. Toimivuudella tässä yhteydessä tarkoitetaan, että pystyttiin havaitsemaan emissiosignaali, joka selvästi erosi taustakohinasta. Lämpölevykuivauksella tehtiin muutama koe-erä, joiden avulla päädyttiin käyttämään korkeampaa 90 °C lämpötilaa elektrodien valmistamisessa. Muita kokeiltuja lämpötiloja olivat huoneenlämpö, 40 °C sekä 70 °C mutta näillä parametreilla valmistetut elektrodit toimivat huonommin tai eivät lainkaan. Liuottimen haihtumisnopeus tuntuu täten vaikuttavan elektrodien laatuun. Muurahaishapon kiehumispiste on kuitenkin 100,8 °C, joten voidaan olettaa, ettei kiehumista tapahtunut millään valmistuslämpötilalla.

Kuiva-aineen kokonaismäärä vaikuttaa suoraan valmistetun pinnoitteen laatuun ja käytettävyyteen. Liian suuri konsentraatio johtaa liian viskoosiin pinnoitteeseen, jolla elektrodien valmistaminen on vaikeaa tai mahdotonta. Koska tarkoituksena oli valmistaa usean eri hiilikonsentraation pinnoitteet, piti kokonaiskuiva-ainemäärä valita siten sopivasti, että myös korkean hiilipitoisuuden pinnoitteet pysyivät käytettäviä. Kokeiltuja kokonaiskuiva-ainemääriä olivat: 50, 75, 100 ja 150 mg/ml liuotinta. Korkean hiilipitoisuuden pinnoitteilla oli korkeampi viskositeetti, vaikka kuiva-aineiden kokonaismäärä pysyi samana, johtuen käytettyjen hiililähteiden matalasta tiheydestä. Näiden tulosten perusteella valittiin kuiva-ainemääräksi 75 mg / ml liuotinta. Kuiva-aineen ja liuottimen suhteen vaikutus sekä käytetyn lämpölevyn lämpötilan vaikutus HECL intensiteettiin on esitetty kuvaajassa 1.



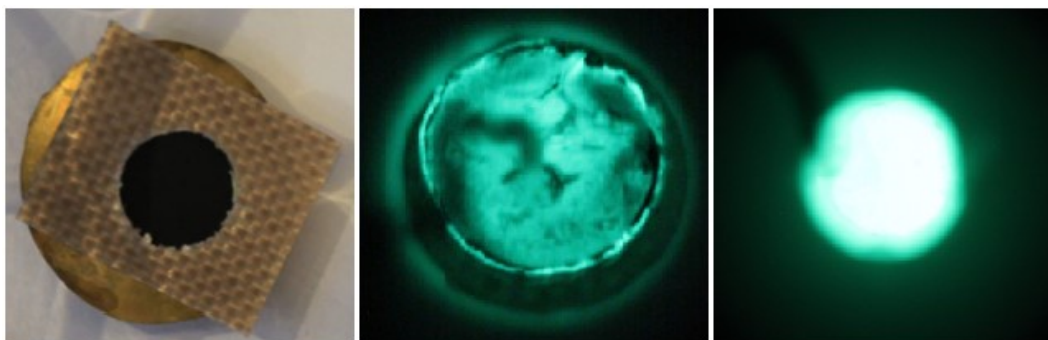
Kuvaaja 1: Kuiva-ainemäärän ja kuivauslämpötilan vaikutus HECL intensiteettiin. Eri kuiva-ainepitoisuuksilla ja kahdessa eri lämpötilassa valmistetut hiilimusta #1 elektrodit mitattu HECL:ssä 10^{-5} M Tb(III) 1mM $K_2S_2O_8^{2-}$ -kelaattiliuoksella. Mittausparametrit: -41,8 V, 31,5 μ C, 50 Hz, 2000 pulssia. Mitattu 6 toistoa jokaisesta mittapisteestä.

Hiilimusta, grafiitti sekä nailon 6,6 mitattiin vialiin, johon lisättiin väkevää muurahaishappoa. Nailon 6,6:n heikon liukoisuuden vuoksi vialeita pidettiin 90°C vesihauteessa muutama päivä. Juuri ennen elektrodien valmistusta pinnoitteet sekoitettiin ultraäänisondilla.

Sarjat valmistettiin siten, että kuiva-aineen kokonaismäärä pysyi koko sarjan läpi samana 75 mg/ml, mikä määritettiin aiemmin parhaaksi. Hiilen osuus tästä kuiva-ainekokonaismäärästä toimi ensimmäisten valmistettujen sarjojen muuttujana. Jokaisesta neljästä eri hiililähteestä tehtiin 7 eri pinnoitetta hiilipitoisuuksilla 10, 20, 30, 40, 50, 60 ja 70 %. Tarkemmat pinnoitteiden koostumukset on esitetty liitteissä olevissa taulukoissa.

Neljän eri hiililähteen lisäksi yritettiin valmistaa hopealla päällystettyjä elektrodeja mutta tämä epäonnistui, koska hopea ei dispergoitunut nylon-liuokseen tehden täten valmistetun pinnoitteen käyttökeltvottamaksi.

Itse elektrodit valmistettiin annostelemalla pipetillä 1 ml pinnoitetta 90 °C –asteisella lämpölevyllä olevalle messinkipalalle, johon oli aikaisemmin asetettu teflon-sapluuna, jonka sisähalkaisija oli noin 7 mm. Käytetty messinkipala oli ympyränmuotoinen ja halkaisijaltaan 1,2 cm. Elektrodien annettiin kuivua 4 tuntia. Nopeasti huomattiin, että kummallakin hiilimustalla valmistetut elektrodit halkeilevat pahasti hiilipitoisuuden noustessa yli 40 %. Ongelmaa yritettiin ratkaista kokeilemalla vielä eri kuivauslämpötiloja mutta lämpötilalla ei ollut vaikutusta halkeiluun. Toimiva 30 % hiilimusta #1 -elektrodi ja 30 % hiilimusta #1 sekä 40 % grafiitti #1 -elektrodin tuottama luminesenssi reaktion aikana.



Kuva 5: (Vasemmalla) Onnistuneesti valmistettu 30 % hiilimusta #1 elektrodi. (Keskellä) 30 % hiilimusta #1 elektrodin tuottama luminesenssi. Pienet halkeamat pinnassa eivät estä elektrodia toimimasta. Valotusaika 10 s. (Oikealla) 40 % grafiitti #1 elektrodin tuottama luminesenssi. Kuvat otettu pimiössä 10^{-3} M Tb(III)-liuoksella. Valotusaika 20 s. Aukkokulma f/3.5, ISO 3200.

15 Hiilen määrän vaikutus havaittuun HECL-intensiteettiin

Tämän osuuden tarkoitus oli selvittää, millä hiilipitoisuudella tehdyt elektrodit antoivat suurimman emissiointensiteetin HECL-mittauksen aikana. Tämän selvittäminen oli tärkeää jatkomittausten kannalta. Hiilimustilla valmistetut elektrodit osoittautuivat liian hauraiksi hiilipitoisuuden ylittäessä 40 % mutta grafiittipäällysteiset elektrodit pystyttiin mittaamaan 70 % hiilipitoisuuteen asti. HECL-mittaukset tehtiin edellä valmistetulla Tb(III)-kelaatti mittaliuoksella. Jokainen mittausta toistettiin kuudella rinnakkaiselektrodilla. Kokonaisemissiomäärät kaikille neljälle johdepartikkelille on esitetty kuvaajassa 2.

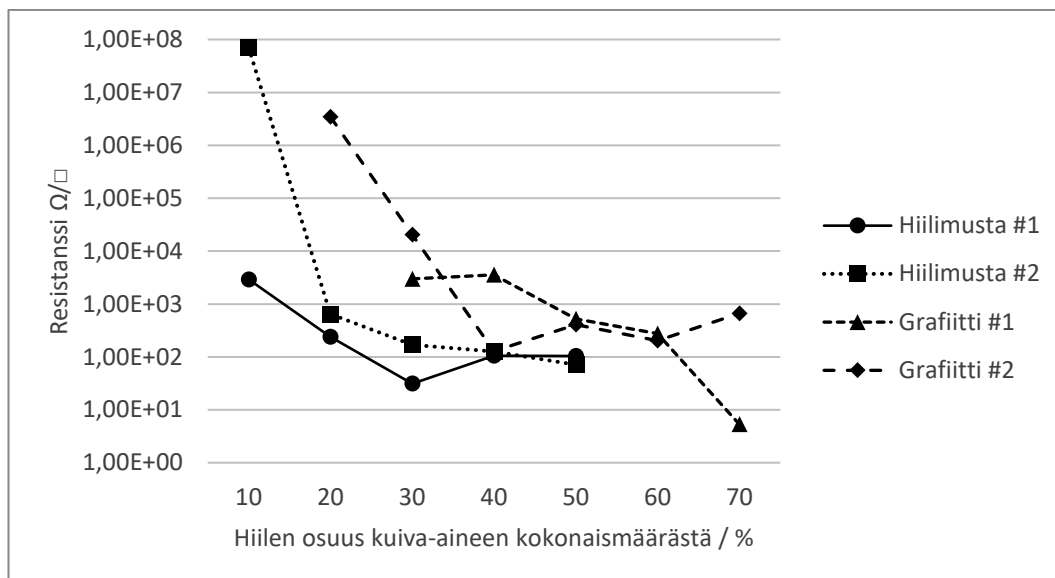


Kuvaaja 2: Hiilen määrän vaikutus HECL-intensiteettiin. 6 rinnakkaismittausta jokaisesta pisteestä. Mittausparametrit: -41,8 V, 31,5 μ C, 50 Hz, 2000 pulssia. Mittaliuos 10^{-5} M Tb(III) 1mM $K_2S_2O_8^{2-}$ -kelaattiliuos. Käytetty 545 nm suodinta.

Havaitaan, että emissiointensiteetti kasvaa tiettyyn pisteeseen hiilen suhteellisen määrän noustessa. Tämän voidaan arvella johtuvan johdepartikkelien määrän noususta pinnoitteessa ja niiden suhteellisen etäisyyden vähenemisestä eristekerroksen pinnasta. Syy miksi emissiointensiteetti lähtee laskuun korkeilla pitoisuuksilla saattaa johtua joko elektrodipinnan fyysisestä hajoamisesta niin kuin kävi hiilimustan korkeilla pitoisuuksilla tai paljaiden hiilipartikkeleiden läsnäolosta elektrodi/elektrolyytti-rajapinnalla. HECL-mittausten emissiomaksimeita vastaavista hiilipitoisuuksista valmistettiin lisäelektrodeja jatkomittauksia varten. Nämä emissiomaksimit olivat hiilen osuuden kuiva-aineesta ollessa 30 % molemmille hiilimustille, 60 % grafiitille #1 ja 40 % grafiitille #2. Variaatiokertoimet (CV) näille vahvuuksille olivat: 46,03 hiilimusta #1, 53,59 hiilimusta #2, 42,72 grafiitti #1 ja 39,96 grafiitti #2.

16 Vastusmittaukset

Vastusmittaukset tehtiin, jotta voitaisiin selvittää noudattavatko valmistetut elektrodit teoriaa, jonka mukaan johtokyvyn tulisi nousta johdepartikkelin määrän noustessa. Vastusmittaukset tehtiin jokaiselle pinnoitevahvuudelle. Tulokset on esitetty kuvaajassa 3.

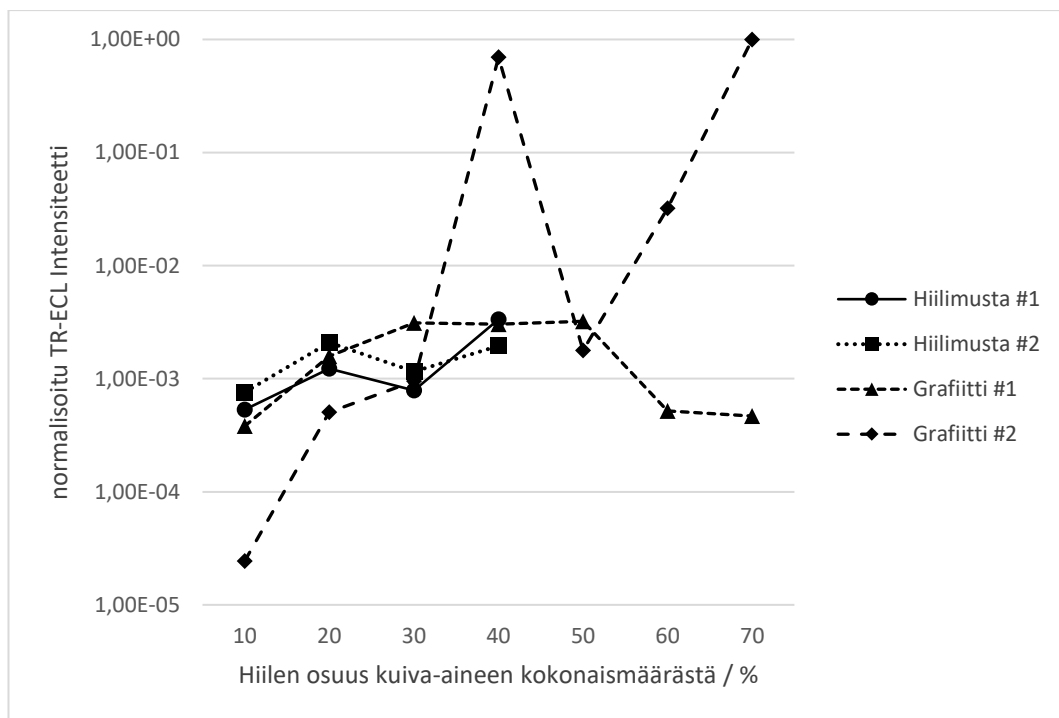


Kuvaaja 3: Pinnoitevahvuuksien resistanssit. Mitattu Jandel model RM3000 mallin nelipistevastusmittarilla polyesterikalvolle valmistetusta mustanäytteistä alhaisimmilla mahdollisella virtamäärällä.

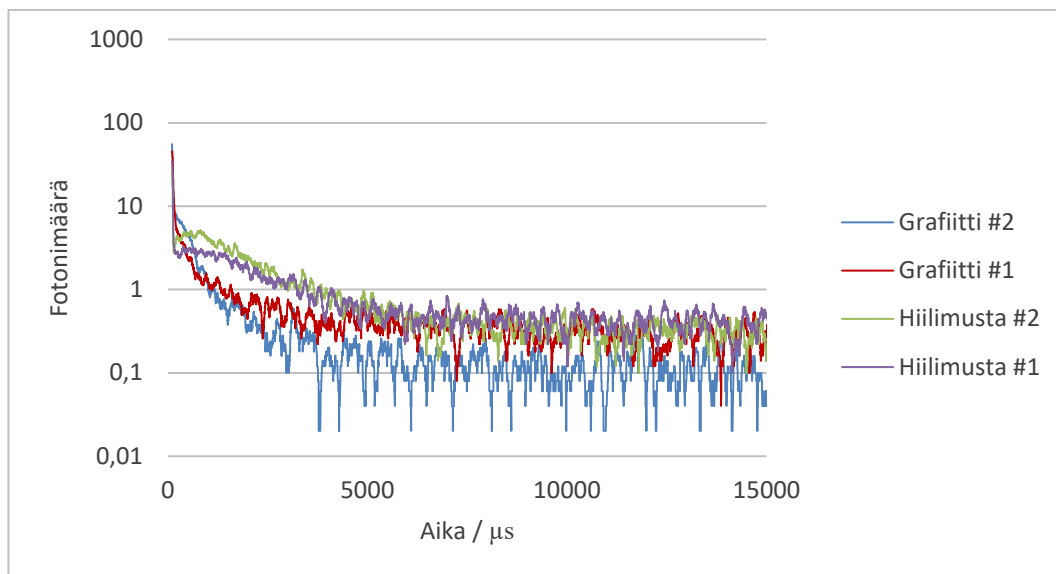
Vastusmittaukset noudattivat samaa linjaa kuin HECL-mittaukset. Resistiivisyys laskee hiilipitoisuuden noustessa tiettyyn pisteeseen asti, jossa se lähtee taas nousuun. Tämä on hieman vasten teoriaa, jonka mukaan johtokyvyn tulisi kasvaa hiilipitoisuuden mukana, koska johtopartikkelien välit pienenevät. On huomioitavaa, että 60 ja 70 % hiilipitoisuuden hiilimustapinnoitteita ei pystytty mittamaan pinnoitteen kuivuessa esiintyvän halkeilun johdosta. On mahdollista, että hyvin korkeilla grafiittipitoisuuksilla tapahtuu sama ilmiö, mikä selittäisi johtokyvyn heikkenemisen.

17 Anodiset mittaukset

Anodiset mittaukset suoritettiin, jotta voitaisiin arvioida elektrodien pinnalla mahdollisesti olevien vapaiden hiilipartikkelien määrää. Mittaukset suoritettiin hiilimustapinnoitteilla neljällä eri hiilivahvuudella ja grafiittipinnoitteilla seitsemästä. Rinnakkaismittauksia suoritettiin jokaisesta mittapisteestä kuusi. Mittaustulokset on esitetty kuvaajissa 4 ja 5. Variaatiokertoimet (CV) anodisen emission maksimien pinnoitevahvuuksille olivat: 151,02 hiilimusta #1, 18,07 hiilimusta #2, 149,51 grafiitti #1 ja 84,13 grafiitti #2. Kuvaajan 5 perusteella voidaan elektrodien pinnalla arvella olevan hiilipartikkeleja, koska kuvaajasta voidaan nähdä pitkäikäisiä emissioita virityspulssin jälkeen.



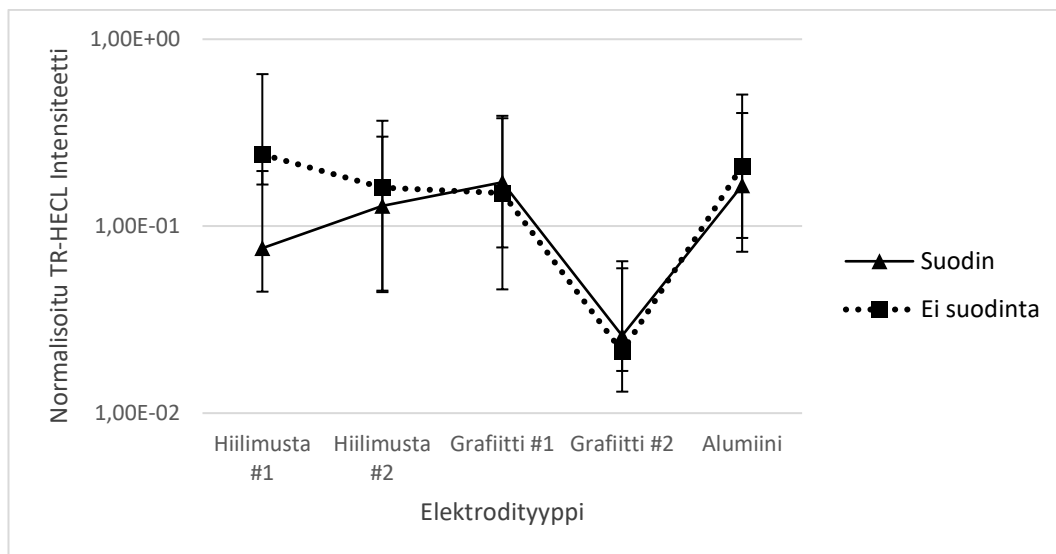
Kuvaaja 4: Hiilen määrän vaikutus anodiseen ECL-intensiteettiin. 6 rinnakkaismittausta jokaisesta pisteestä. Mittausparametrit: 41,8 V, 31,5 μC , 50 Hz, 2000 pulssia. Mittaliuos 10^{-5} M ($\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$), 10^{-3} M tRPA, 0.1 M NO_3^- . Käytetty 620 nm suodinta.



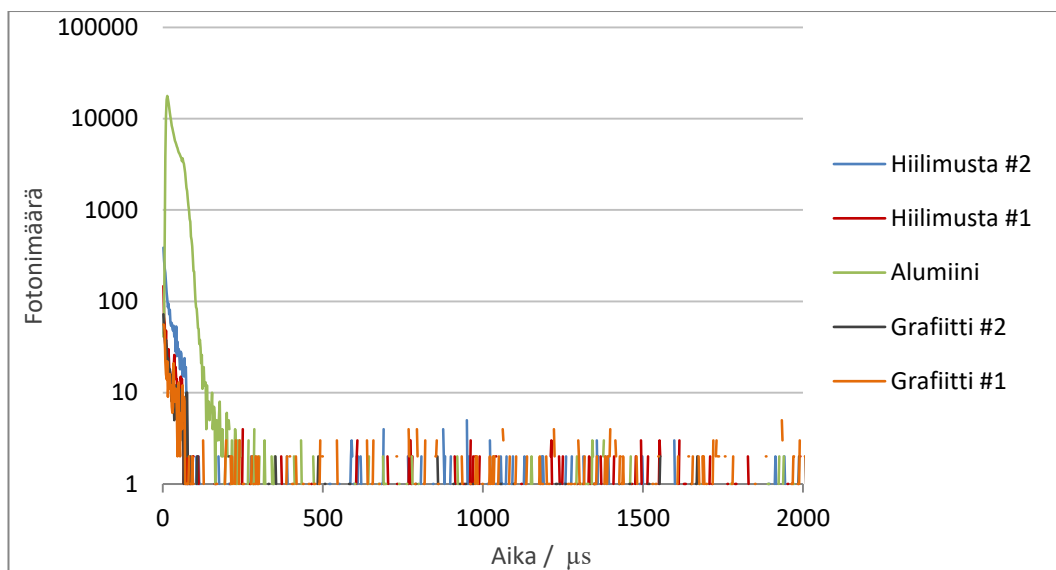
Kuvaaja 5: Anodisen emission määrä virityspulssin aikana ja jälkeen. Mittausparametrit: -41,8 V, 31,5 μC , 50 Hz, 2000 pulssia. Mittaliuos 10^{-5} M $(\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+})$, 10^{-3} M tRPA, 0.1 M NO_3^- . Käytettyjen elektrodien hiilipitoisuudet samat kuin HECL-maksimien antaneet hiilipitoisuudet. Käytetty 620 nm suodinta.

18 Blankko mittaukset

Mitattiin sarja valmistettuja elektrodeja ilman luminoforin läsnäoloa, jotta kiinteän tilan elektroluminesenssin ja muun taustasäteilyn määrä saataisiin selville. Mittaukset tehtiin 545 nm filterin kanssa sekä ilman filteriä. Käytetyt hiilipitoisuudet valittiin katodisen emissiointensiteetin maksimien perusteella, kuten edellä oli kuvailtu. Mittaukset suoritettiin kymmenestä rinnakkaiselektrodista. Lisäksi mitattiin blankko-sarja alumiinioksidilla päällystetystä alumiinielektrodista vertailun vuoksi. Tulokset on esitetty kuvaajissa 6 ja 7.



Kuvaaja 6: Mitatun taustasäteilyn määrä. Tulokset skaalattu. 95 % luottamusvälit esitetty kuvaajassa. Blankot mitattu 0,05 M ($B_4O_7^{2-}$), 0,1 M (SO_4^{2-}), 0,001 M $K_2S_2O_8^{2-}$ -liuoksella. Mittausparametrit samat kuin HECL-mittauksissa. Käytetty 545 nm suodinta.

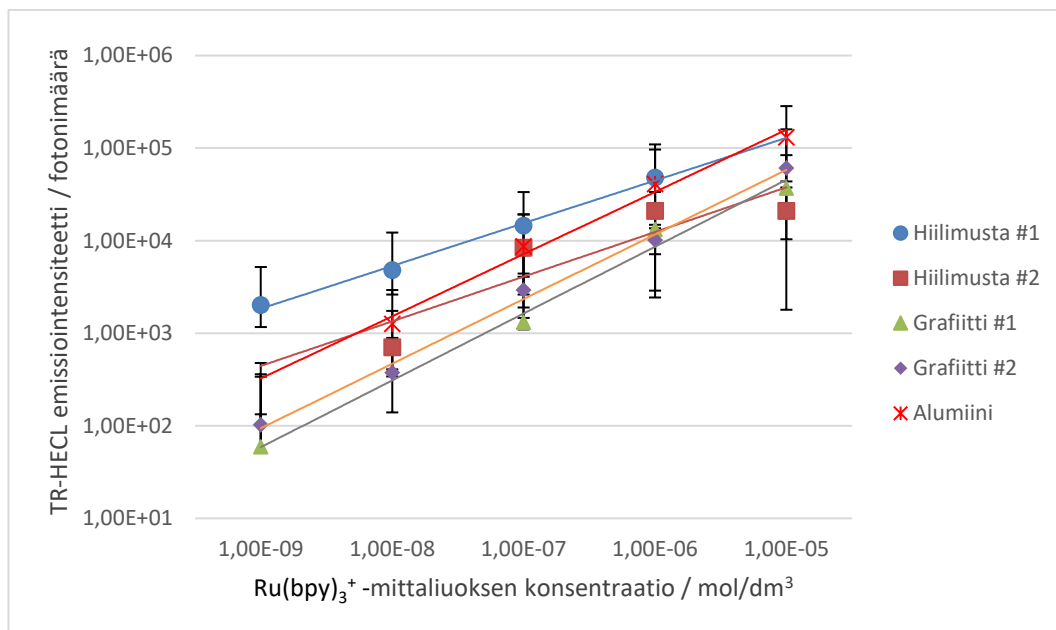


Kuvaaja 7: Taustasäteilyn määrä virityspulssin aikana ja sen jälkeen. Esitetty yhden elektrodin mittaus jokaisesta elektrodityypistä. Mittausparametrit: -41,8 V, 31,5 μC, 50 Hz, 2000 pulssia. Käytetty 545 nm suodinta.

Voidaan havaita, että hiilimusta- sekä grafiittielektrodien taustasäteilyn määrä on suuruudeltaan verrattavissa alumiinioksidi päällysteisten alumiinielektrodien taustasäteilyn määrään. Virityspulssin aikana nähdään alumiinin taustasäteilyn olevan suurempi kuin valmistetuilla hiilielektrodeilla. Taustasäteilyn suuruuden hajonta on kuitenkin valmistetuilla hiilielektrodeilla korkeampi kuin alumiinilla. Kuvaajasta 7 nähdään, että virityspulssin jälkeinen emissio on hiilielektrodeille olematonta mutta alumiinilla esiintyy emissiota vielä virityspulssin jälkeen.

19 Kalibraatiosuorat

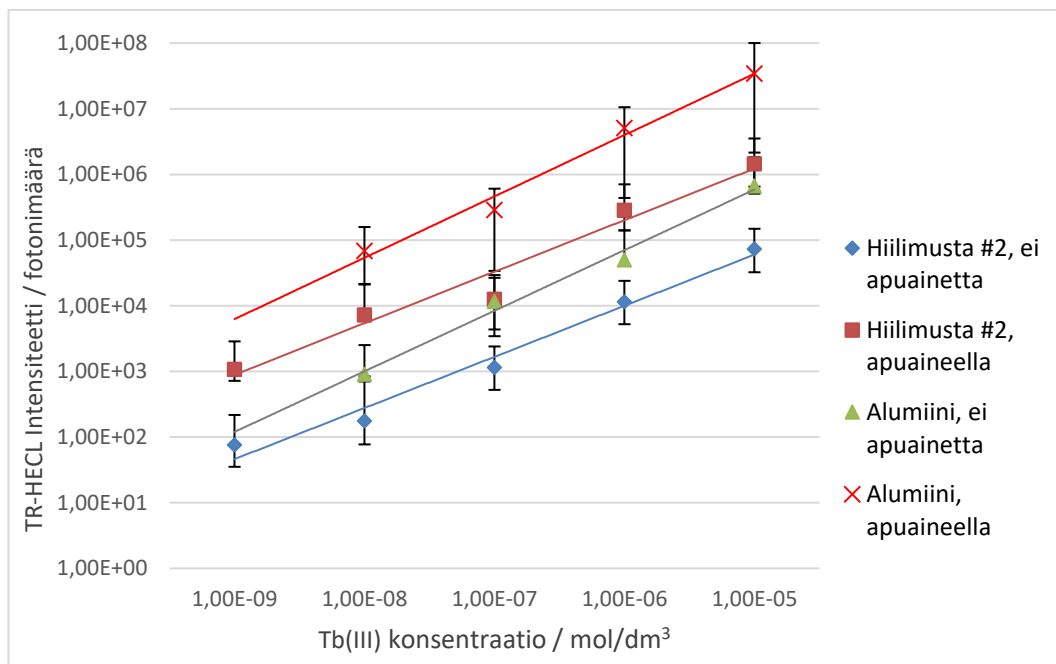
HECL-mittausten avulla valittiin kustakin pinnoitetyypistä hiilipitoisuus, jolla oli korkein emissiointensiteetti. Näistä vahvuuksista valmistettiin samalla menetelmällä kuin edellä lisää elektrodeja. Näillä elektrodeilla mitattiin kalibraatiosuorat. Rinnakkaismittauksia jokaisesta pisteestä tehtiin 3. Tulokset on esitetty kuvaajassa 8.



Kuvaaja 8: Hiilimusta #1, #2, grafiitti #1, #2 sekä alumiini kalibraatiosuorat. 95 % luottamusvälit esitetty kuvaajassa. Mittausparametrit: -41,8 V, 31,5 μ C, 50 Hz, 2000 pulssia. Mittaliuos Ru(bpy)₃⁺ 10⁻³ M tRPA, 0.1 M NO₃⁻. -kelaattiliuos. Emissiosta vähennetty taustan vaikutus. Käytetty 620 nm suodinta.

20 Apuaineen lisäyksen vaikutus

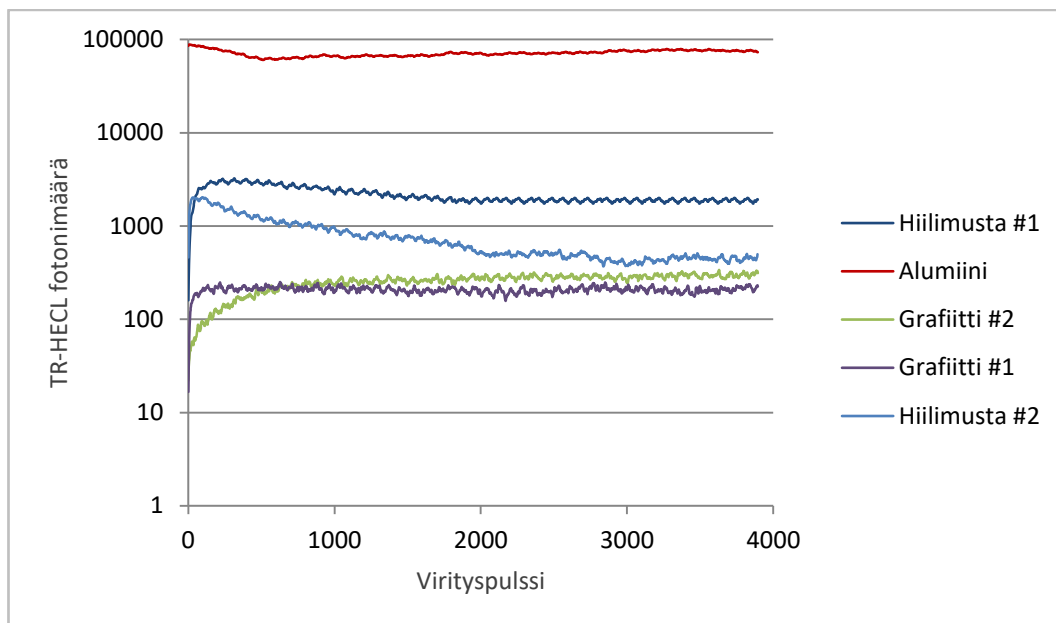
Apuaineen lisäyksen vaikutusta tutkittiin hiilimusta #2:n 30 % hiilimustakonsentraation elektrodeilla. Hiilimustaelektrodit sekä verrokkina toimivat alumiinioksidipäällysteiset alumiinielektrodit mitattiin mittaliuossarjalla apuaineen kanssa sekä ilman. Tässä diplomityössä käytetty apuaine oli kaliumpersulfaatti (konsentraatio 0,001 mol/dm³). Tarkempi mittaliuoksen valmistusmenetelmä on kuvattu edellä. Mittalaitteisto ja parametrit olivat samat kuin edellä HECL-mittauksissa. Tulokset on esitetty kuvaajassa 9. Tuloksista voidaan havaita, että persulfaatin lisäys mittaliuokseen nostaa emissiointensiiteettiä usealla kertaluokalla sekä hiilimustalla että alumiinilla.



Kuvaaja 9: Kaliumpersulfaatin lisäyksen vaikutus ECL intensiteettiin. Mitattu Tb(III)-mittaliuoksella 0,001 M $K_2S_2O_8^{2-}$ -apuaineella ja ilman. 95 % luottamusvälit esitetty kuvaajassa. Mittausparametrit: -41,8 V, 31,5 μ C, 50 Hz, 2000 pulssia. Käytetty 545 nm suodinta.

21 Emissiointensiteetti virityspulssin funktiona

Jotta voitaisiin selvittää, tapahtuuko elektrodissa mittauksen aikana muutoksia, mitattiin sarja elektrodeja suuremmalla pulssimäärällä kuin muut tässä diplomityössä suoritettut mittaukset. Elektrodipinta voi esimerkiksi vaurioitua vedyn muodostumisreaktioissa, mikä vaikuttaisi emissiointensiteetteihin. Käytetty suurempi pulssimäärä oli 4000 pulssia 2000 pulssin sijaan. Keskimääräinen pulssipituus oli 95 μ s. Kuvaajasta 10 voidaan havaita, että fotonimäärä pysyy alun lievän laskun jälkeen vakiona, mikä viittaa siihen, ettei elektrodissa tapahdu muutoksia.

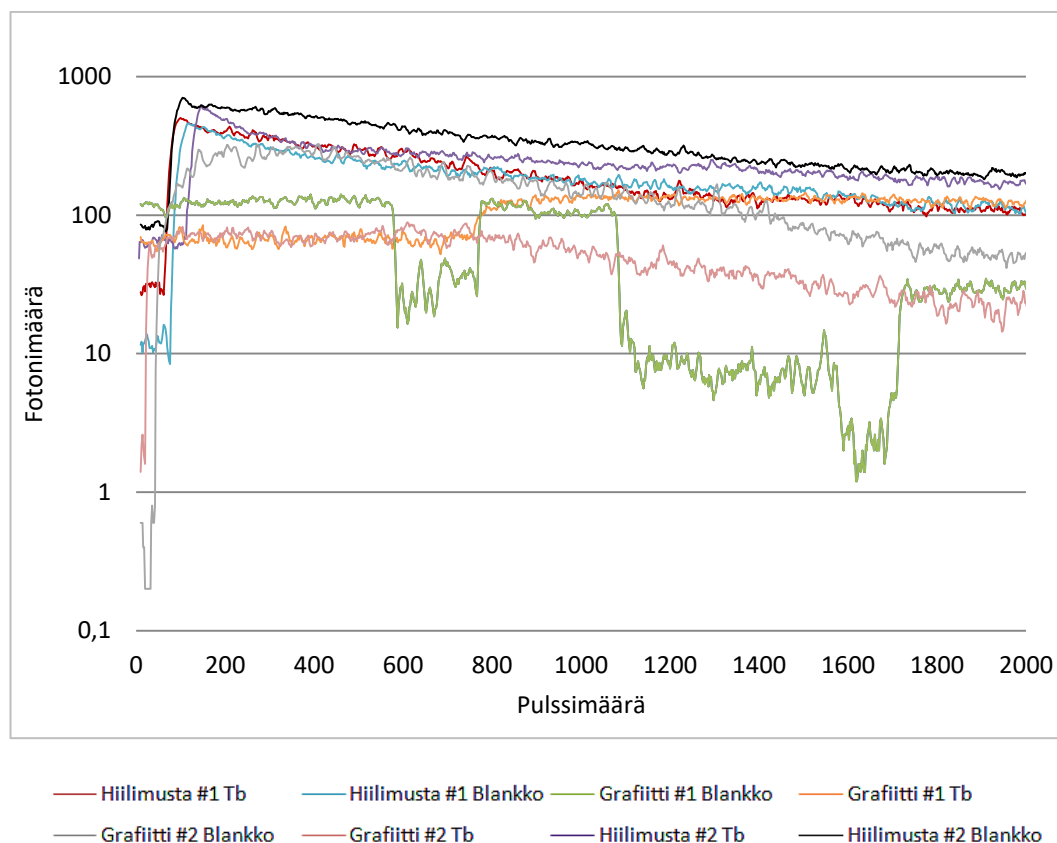


Kuvaaja 10: Kokonaisemissio ajan funktiona. Mittapisteinä joka toinen pulssi. Mittausparametrit: -41,8 V, 31,5 μC , 50 Hz, 4000 pulssia. Mittaliuos Tb(III) 10^{-5} M 0,001 M $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ -liuos. Käytetty 545 nm suodinta.

22 Tasavirtakokeet

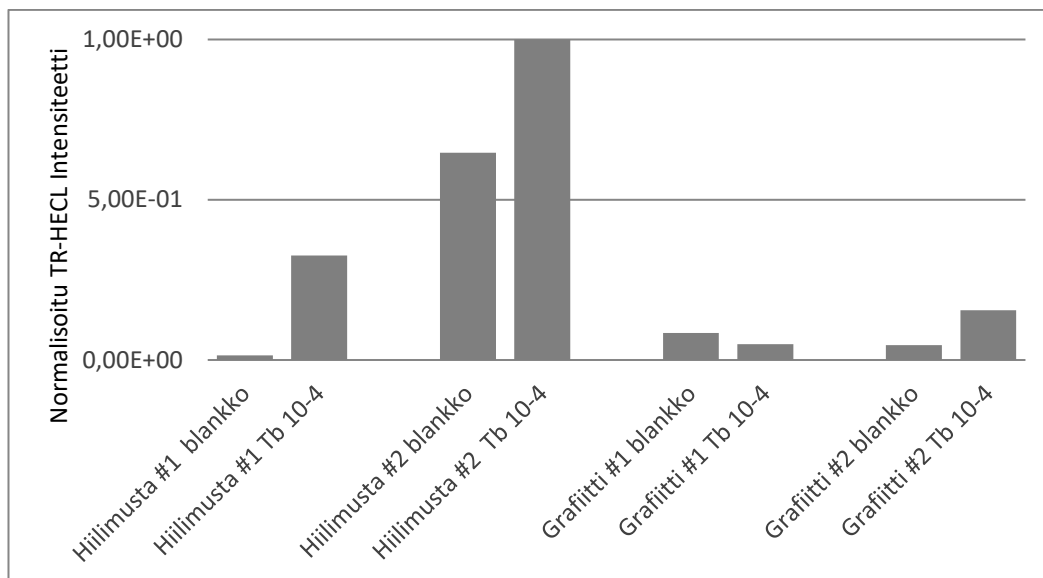
Tb(III) ioneita ja kelaatteja voidaan pulssipolarisaatiolla luotujen virittyneiden elektronien lisäksi virittää suoralla tasavirralla (25). Alumiinioksidikerrokseen perustuvat elektrodit hajoavat lähes välittömästi virran kytkemisen jälkeen vedyn ja hapen muodostumisreaktioiden vuoksi (25).

Mitattujen elektrodien pulssiprofiilit on esitetty kuvaajassa 11. Kuvaajassa esiintyvä heilunta johtuu jännitteen suuruuden tahallista muutoksista ja tapahtuvasta vedynmuodostumisesta. Kuvaajasta voidaan havaita, että blankon ja mittaliuoksen emissioissa ei ollut merkittävää eroa.



Kuvaaja 11: Tasavirtasarjat. Mittausjännite noin 5 voltia, mitta-aika 1 minuutti. Mittaliuos Tb(III) 10^{-4} M $0,001$ M $K_2S_2O_8^{2-}$ -liuos sekä apuaineellinen blankkoliuos. Käytetty 545 nm suodinta.

Lisäksi tasavirtakokeissa käytetyt elektrodit mitattiin uudelleen HECL-menetelmällä, jotta voitaisiin selvittää, ovatko elektrodit vaurioituneet tasavirtakokeen aikana. Tulokset on esitetty kuvaajassa 12. Emissiointensiteetit ylittävät selvästi taustasäteilyn, joten voidaan havaita, ettei tasavirran käyttö elektrodien aiheuttanut niiden hajoamista, kuten käy alumiinioksidipäällysteisille alumiinielektrodeille (25). Kuvaajien 12 ja 13 avulla voidaan päätellä, että elektrodeilla voidaan virittää luminoforeja tasavirralla, mutta toteamisraajat ovat heikot, sillä suurillakin luminoforikonsentraatioilla näytteet eivät eronneet merkittävästi blankoista.

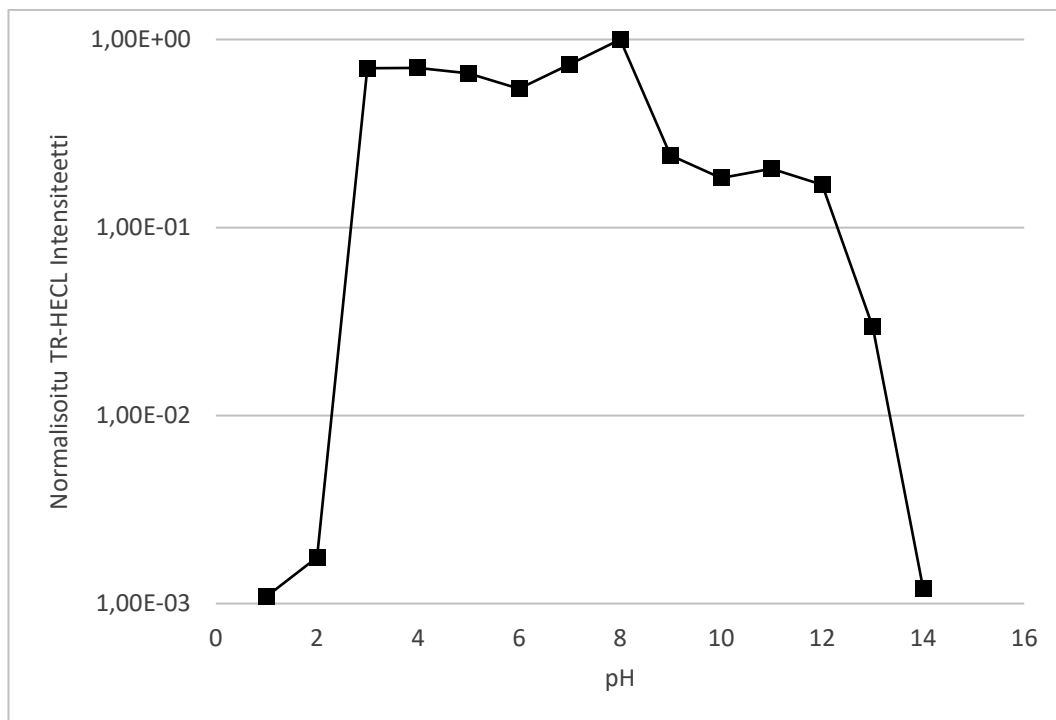


Kuva 12: Tasavirtakokeiden elektrodien toimivuus HECL-mittauksessa. Nimeämiskäytäntö vastaa tasavirtakokeissa käytettyjä elektrodeja eikä viittaa käytettyyn mittaliuokseen, joka oli kaikissa mittauksissa 10^{-4} Tb(III) $0,001 \text{ M K}_2\text{S}_2\text{O}_8^2$ -liuos. Mittausparametrit: $-41,8 \text{ V}$, $31,5 \mu\text{C}$, 50 Hz , 2000 pulssia. Käytetty 545 nm suodinta. Tulokset skaalattu.

23 pH:n vaikutus

Hyvin korkeiden tai matalien pH-tasojen on todettu vaikuttavan havaittavaan emissiointensiteettiin (1). Alumiinioksidipäällysteisten alumiinielektrodien on todettu toimivan pH-alueella 3-11 (36). Korkeissa ja matalissa pH-lukemissa oksidikerros hajoaa. pH-tasojen vaikutusta hiielektrodien emissiointensiteettiin tutkittiin mittaamalla sarja hiilimusta #1:llä valmistettuja elektrodeja, joissa kaikissa oli sama 30 % hiilipitoisuus.

Mittaukset suoritettiin samoilla parametreille kuin muutkin tässä diplomityössä tehdyt HECL-mittaukset. Ainoana erona oli, että käytetyn mittaliuoksen pH:ta säädettiin käyttämällä väkevää rikkihappoa sekä vahvaa natriumhydroksidiliuosta. Mittaustulokset on esitetty alla olevassa kuvassa 40.



Kuva 13: pH:n vaikutus HECL emissiointensiiteettiin. Tulokset skaalattu. Mittausparametrit: -41,8 V, 31,5 μ C, 50 Hz, 2000 pulssia. Käytetty 545 nm suodinta. Mittaliuos 10^{-5} M Tb(III) 0,001 M $K_2S_2O_8^{2-}$ -liuos, jonka pH:ta säädetty väkevällä rikkihapolla sekä natriumhydroksidilla.

Emissiomaksimeiden voidaan havaita olevan neutraalin pH:n alueella ja ääripäitä lähestyessä emissiointensiiteetti laskee huomattavasti. Samanlaista elektrodipinnan täydellistä hajoamista, mitä tapahtuu alumiinioksidipäällysteisillä alumiinielektrodeilla, ei kuitenkaan havaittu, mikä voitiin todentaa mittaamalla ääripäissä käytetyt elektrodit huuhtelun jälkeen uudelleen. Matalissa pH:issa yksi inhiboivista tekijöistä on hydratoituneiden elektronien reagoiminen vetyatomeiksi (yhtälö 12) (34). Korkeissa pH:ssa on havaittu Tb(III)-kelaattien saostuvan ulos liuoksesta (40).



24 Tutkimustulosten tarkastelu ja yhteenveto

Tässä diplomityössä valmistetut komposiittielektrodit ovat melko lupaavia. Korkein mitattu valmistettujen komposiittielektrodien HECL emissiointensiteetti on kuitenkin verrattuna alumiinioksidipäällysteisten alumiinielektrodien vastaavaan vain noin 10 % mutta taustaemission määrä on valmistetuilla hiilielektrodeilla pienempi kuin alumiinioksidipäällysteisillä alumiinielektrodeilla. Valmistetut elektrodit ovat lupaavia myös muissa yhteyksissä.

Anodisten mittausten tulosten perusteella voidaan hiilipartikkeleja arvella olevan elektrodien pinnalla, mutta emissiointensiteetit ovat mitättömiä verrattuna HECL-intensiteetteihin. Lisäksi valmistetut komposiittielektrodit osoittavat kestävyyttä sekä korkeissa että matalissa pH-lukemissa ja kestävät tasavirtaa. Apuaineiden käyttö on kuitenkin pakollista emissiointensiteetin parantamisen vuoksi.

Komposiittielektrodien tässä diplomityössä esitetty valmistusmenetelmä on yksinkertainen mutta aikaa vievä. Tämä johtuu pääasiallisesti nailonin heikosta liukoisuudesta lähes kaikkiin tunnettuihin liuottimiin. Valmistusmenetelmän toistettavuudessa on myös parantamisen varaa, mikä näkyi rinnakkaismittausten korkeista suhteellista keskihajonnoista.

Nylon 6,6 ja hiilimusta/grafiitti –pohjaiset ”binäärimusteet” tarjoavat HECL elektrodien päällystemateriaalin, joka on toimivuudeltaan hyvä. Tämän diplomityön mittauksiin valmistetuista elektrodeista lähes kaikki pystyivät virittämään luminoforin, vaikka intensiteetin hajonta onkin suurta. Mahdollisia jatkotutkimuskohteita ovat elektrodien valmistusprosessin parantaminen, jotta siitä saataisiin nopeampi ja että valmistettujen elektrodien tasalaatuisuus parantuisi.

Lähteet

1. Wu, A-H., Sun, J-J., Fang, Y-M., Zheng, R-J., Chen, G-N., Hot Electron Induced Cathodic Electrochemiluminescence at Disposable Screen Printed Carbon Electrodes, Fuzhou : Fuzhou University, 2010.
2. Suomi, J., Kulmala, S., Hot Electron-Induced Electrogenerated Chemiluminescence, *Reviews in Fluorescence*, Springer (2009), New York 46-73.
3. Harris, D C., Quantitative Chemical Analysis, New York : W. H. Freeman and Company, 2007.
4. Kulmala, S., Suomi J., Current status of modern analytical luminescence methods, *Analytica Chimica Acta* **500** (2003) 21-69.
5. Jiang, Q., Suomi, J., Håkansson, M., Niskanen, A.J., Kotiranta, M., Kulmala, S., Cathodic electrogenerated chemiluminescence of Ru(bpy)₃²⁺ chelate at oxide-coated heavily doped silicon electrodes, *Analytica Chimica Acta* **541** (2005) 159-165.
6. Ylinen-Hinkka, T., Hot electron-induced electrochemiluminescence studies with different cathode materials and electrode geometries, Helsinki : Aalto University, 2012.
7. Kulmala, S., Helin, M., Ala-Kleme, T., Väre, L., Papkovsky, D., Korpela, T., Kulmala, A., Electrochemiluminescent labels for applications in fully aqueous solutions at oxide-covered aluminium electrodes, *Analytica Chimica Acta* **386** (1999) 1-6.

8. Wang, J., Musameh. M., Carbon nanotube screen-printed electrochemical sensors, Las Cruces : Department of Chemistry and Biochemistry, New Mexico State University, 2003.
9. Avramescu, A., Andreescu, S., Noguer, T., Bala, C., Andreescu, D., Marty, J-L., Biosensors designed for environmental and food quality control based on screen-printed graphite electrodes with different configurations, *Anal Bioanal Chem* **374** (2002) 25-32.
10. Blackburn, G.F., Shah, H.P., Kenten, J.H., Lelan, J., Kamin, R.A., Link, J., Peterman, J., Powell, M.J., Shah, A., Talley D.B., Electrochemiluminescence detection for development of immunoassays and DNA probe assays for clinical diagnostics, *Clin Chem* **37** (1991) 1534-1539.
11. Qi, L., Xia, Y., Qi, W., Gao, W., Wu, F., Xu, G., Increasing Electrochemiluminescence Intensity of a Wireless Electrode Array Chip by Thousands of Times Using A Diode for Sensitive Visual Detection by a Digital Camera, *Anal. Chem* **88** (2016) 1123-1127.
12. Walker, D.C., The hydrated electron, *Q.Rev.Chem.Soc* **21** (1967) 79-108.
14. Kulmala, S., Haapakka, K., Mechanism of electrogenerated luminescence of terbium(III)-{2,6-bis[carboxymethyl]aminomethyl}-4-benzoylphenol} chelate at an oxide-covered aluminium electrode, *Journal of Alloys and Compounds* **225** (1995) 502-506.
15. Krivenko, A.G., Komarova, N.S., Electron Injection from Nanostructured Carbon Electrodes at Moderate Cathodic Potentials, Chernogolovka : *Russian Journal of Electrochemistry* **43** (2007) 1123-1126.
16. Krivenko, A.G., Komarova, N.S., Piven, N.P., Electrochemical generation of solvated electrons from nanostructured carbon, *Chernogolovka : Electrochemistry Communications* **9** (2007) 2364-2369.

17. Kuosmanen, P., Salminen, K., Pusa, M., Ala-Kleme, T., Kulmala, S., Hot electron-induced electrogenerated chemiluminescence of Ru(bpy)₃²⁺ chelate at a pointed active metal cathode in fully aqueous solutions, *Journal of Electroanalytical Chemistry* **783** (2016) 63-67.
18. Herbert, J.M., Coons, M.P., The Hydrated Electron, *Columbus : Annu. Rev. Phys. Chem* **68** (2017) 20.1-20.26.
19. Kulmala, S., Kulmala, A., Ala-Kleme, T., Pihlaja, J., Primary cathodic steps of electrogenerated chemiluminescence of lanthanide(III) chelates at oxide-covered aluminum electrodes in aqueous solution, *Analytica Chimica Acta* **367** (1998) 17-31.
20. Kulmala, S., Ala-Kleme, T., Heikkilä, L., Väre, L., Energetic electrochemiluminescence of (9-fluorenyl)methanol induced by injection of hot electrons into aqueous electrolyte solution, *J. Chem. Soc. Faraday Trans* **93** (1997) 3107-3113.
21. Kulmala, S., Ala-Kleme, T., Joela, H., Kulmala, A., Hot electron injection into aqueous electrolyte solution from thin insulating film-coated electrodes, *J. Radioanal. Nucl. Chem* **232** (1998) 91-95.
22. Salminen, K., Grönroos, P., Johansson, L-S., Campbell, J., Hot electron-induced electrochemiluminescence at polyetherimide-carbon black-based electrodes, *Electrochimica Acta* **237** (2017) 185-191.
23. Salminen, K., Grönroos, P., Tuomi, S., Kulmala, S., Cathodic electrogenerated chemiluminescence of aromatic Tb(III) chelates at polystyrene-graphite composite electrodes, *Analytica Chimica Acta* (2017) 1-7.
24. Håkansson, M., Helin, M., Putkonen, M., Jiang, Q., Kotiranta, M., Suomi, J., Niskanen, A.J., Ala-Kleme, T., Kulmala S., Electrochemiluminescence of Tb(III)

chelates at optically transparent tunnel emission electrodes fabricated by atomic layer deposition, *Analytica Chimica Acta* **541** (2005) 137-141.

25. Håkansson, M., Jiang, Q., Spehar, A-M., Suomi, J., Kotiranta, M., Kulmala S., Direct current-induced electrogenerated chemiluminescence of hydrated and chelated Tb(III) at aluminum cathodes, *Analytica Chimica Acta* **541** (2005) 171-177.

26. Håkansson, M., Jiang, Q., Helin, M., Putkonen, M., Niskanen, A.J., Pahlberg, S., Ala-Kleme, T., Heikkilä, L., Suomi, J., Kulmala S., Cathodic Tb(III) chelate electrochemiluminescence at oxide-covered magnesium and n-ZnO:Al/MgO composite electrodes, *Electrochimica Acta* **51** (2005) 289-296.

27. Bhore, S., Formulation and Evaluation of Resistive Inks for Applications in Printed Electronics, Western Michigan University, 2013.

28. Carey, D., Smith, R.C., Silva, S.R.P., Carbon based electronic materials: applications in electron field emission, *J. Mater. Sci: Mater Electron* **17** (2006), 405-412.

29. Ylinen, T., Suomi, J., Helin, M., Ala-Kleme, T., Kulmala, S., Time-Resolved Detection of Hot Electron-Induced Electrochemiluminescence of Fluorescein in Aqueous Solution, *Journal of Fluorescence* **16** (2006)

30. Kulmala, S., Ala-Kleme, T., Kulmala, A., Papkovsky, D., Loikas, K., Cathodic Electrogenerated Chemiluminescence of Luminol at Disposable Oxide-Covered Aluminum Electrodes, *Anal. Chem* **70** (1998) 1112-1118.

31. Kulmala, S., Raerinne, P., Takalo, H., Haapakka, K., Tb(III) chelate chemiluminescence induced by the dissolution of additively coloured potassium chloride in aqueous solutions of peroxydisulphate ions, *Journal of Alloys and Compounds* **225** (1995) 492-496.

32. Kulmala, S., Kankare, J., Haapakka, K., Electrogenated luminescence of terbium(III) in aqueous solutions, *Analytica Chimica Acta* **252** (1991) 65-76.
33. Suomi, J., Kulmala, S., Hot Electron-Induced Electrogenated Chemiluminescence, *Reviews in Fluorescence* (2011).
34. Kulmala, S., Kulmala, A., Helin, M., Hyppänen, I., Hot electron-induced time-resolved electrogenerated luminescence of Tb(III) ions at stationary oxide-covered aluminium electrodes, *Analytica Chimica Acta* **359** (1998) 71-86.
35. Kulmala, S., Kulmala, A., Laine, E., Takalo, H., Haapakka, K., Terbium(III)-{2,6-bis[N,N-bis(carboxymethyl)aminomethyl]-4-benzoylphenol} chelate enhanced luminescence of X-ray irradiated sodium chloride, *Journal of Alloys and Compounds* **225** (1995) 497-501.
36. Ala-Kleme, T., Kulmala, S., Väre, L., Juhala, P., Helin, M., Hot Electron-Induced Electrogenated Chemiluminescence of Ru(bpy)₃²⁺ Chelate at Oxide-Covered Aluminum Electrodes, *Anal. Chem* **71** (1999) 5538-5543.
37. Gross, E.M., Pastore, P., Wightman, R.M., High-Frequency Electrochemiluminescent Investigation of the Reaction Pathway between Tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II) and Tripropylamine Using Carbon Fiber Microelectrodes, Chapel Hill : Department of Chemistry, University of North Carolina (2001).
38. Miao, W., Choi, J-P., Bard A.J., Electrogenated Chemiluminescence 69: The Tris(2,2'-bipyridine)ruthenium(II),(Ru(bpy)₃²⁺/Tri-n-propylamine (TPrA) System Revisited, Austin : Department of Chemistry & Biochemistry, University of Texas (2002).
39. Håkansson, M., Jiang, Q., Spehar, A-M., Suomi, J., Kulmala, S., Extrinsic luminescence of aluminum induced by lanthanide chelates in alkaline aqueous solution, *Journal of Luminescence* **118** (2006) 272-282.

40. Huang, J-C., Carbon Black Filled Conducting Polymers and Polymer Blends, Lowell, MA : Plastics engineering Department, University of Massachusetts Lowell (2001).
41. Balberg, I., A comprehensive picture of the electrical phenomena in carbon black-polymer composites, *Carbon* **40** (2002) 139-143.
42. Zhang, M., Yuan, R., Chai, Y., Chen, S., Zhong, X., Zhong, H., Wang, C., A cathodic electrogenerated chemiluminescence biosensor based on luminol and hemin-graphene nanosheets for cholesterol detection, *RSC Advances* **2** (2012) 4639-4641.
43. Kuosmanen, P., Pusa, M., Salminen, K., Kulmala, S., Extraordinary photoluminescence behavior of an efficient electrochemiluminophore: Tb(III) chelated by 2,6-bis[N,N-bis(carboxymethyl)aminomethyl]-4-benzoylphenol, *Journal of Luminescence* **173** (2016) 19-24.

Liitteet

Taulukko 1: Valmistettujen pinnoitesarjojen koostumukset.

PINNOITE-SARJA 4 Nailon/hiilimusta (XC72R, Vulcan)	Nailon massa (g)	Hiili c65 massa (g)	Hiilen osuus kuiva-aineesta	Liuottimen määrä (ml)	Kuiva-aine/liuotin mg/ml
A	0,6735	0,0755	0,1	10	74,9
B	0,6023	0,1505	0,2	10	75,28
C	0,5238	0,2257	0,3	10	74,95
D	0,4534	0,3005	0,4	10	75,39
E	0,373	0,3766	0,5	10	74,96
F	0,3006	0,4515	0,6	10	75,21
G	0,227	0,529	0,7	10	75,6

PINNOITE-SARJA 5 Nailon/hiilimusta (C65, Timcal)	Nailon massa (g)	Hiili c65 massa (g)	Hiilen osuus kuiva-aineesta	Liuottimen määrä (ml)	Kuiva-aine/liuotin mg/ml
A	0,6765	0,0749	0,1	10	75,14
B	0,6083	0,1502	0,2	10	75,85
C	0,5243	0,2268	0,3	10	75,11
D	0,4501	0,2993	0,4	10	74,94
E	0,3768	0,3766	0,5	10	75,34
F	0,2993	0,451	0,6	10	75,03
G	0,2272	0,5264	0,7	10	75,36

PINNOITE-SARJA 6 Nailon/grafiitti (SLP30, Timrex)	Nailon massa (g)	Hiili c65 massa (g)	Hiilen osuus kuiva- aineesta	Liuottimen määrä (ml)	Kuiva-aine/liuotin mg/ml
A	0,6752	0,075	0,1	10	75,02
B	0,6013	0,1503	0,2	10	75,16
C	0,5251	0,2256	0,3	10	75,07
D	0,4509	0,3022	0,4	10	75,31
E	0,378	0,3744	0,5	10	75,24
F	0,298	0,4514	0,6	10	74,94
G	0,2254	0,527	0,7	10	75,24

PINNOITE-SARJA 7 Nailon/grafiitti (forward looking solutions, UK)	Nailon massa (g)	Hiili c65 massa (g)	Hiilen osuus kuiva- aineesta	Liuottimen määrä (ml)	Kuiva-aine/liuotin mg/ml
A	0,672	0,075	0,1	10	74,7
B	0,603	0,15	0,2	10	75,3
C	0,529	0,224	0,3	10	75,3
D	0,448	0,3	0,4	10	74,8
E	0,373	0,375	0,5	10	74,8
F	0,307	0,451	0,6	10	75,8
G	0,223	0,525	0,7	10	74,8